



EVALUASI PEMANFAATAN OZON UNTUK MENEKAN AKTIVITAS MIKROBA DAN RESIDU ANTIBIOTIK GOLONGAN PENISILIN PADA SUSU SEGAR

DISERTASI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Doktor**



Oleh :

DODIK SUPRPTO

NIM. 177050100111008

**PROGRAM DOKTOR ILMU TERNAK
MINAT STUDI TEKNOLOGI HASIL TERNAK**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**M A L A N G
2021**

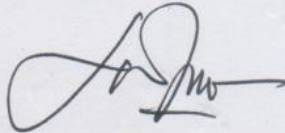
DISERTASI

JUDUL : Evaluasi Pemanfaatan Ozon untuk Menekan Aktivitas Mikroba
dan Residu Antibiotik Golongan Penisilin pada Susu Segar

NAMA : Dodik Suprpto

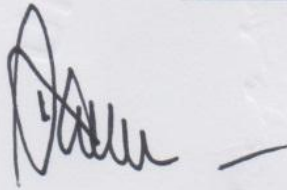
NIM. : 177050100111008

Disetujui:
Komisi Pembimbing,



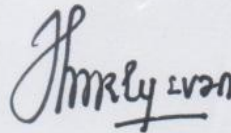
Prof. Dr. Ir. Lilik Eka Radiati, MS. IPU

Ketua



Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS.

Anggota



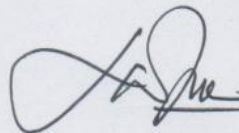
Dr. Herly Evanuarini, S.Pt., MP.

Anggota

Mengetahui :

Universitas Brawijaya
Fakultas Peternakan
Dekan,

Fakultas Peternakan
Program Studi Doktor Ilmu Ternak
Ketua,



Prof. Dr.Sc.Agr. Ir. Suyadi, MS., IPU.,

ASEAN Eng.

NIP. 19620403 198701 1001

Prof. Dr. Ir. Lilik Eka Radiati, MS. IPU

NIP. 19590823 198609 2 001

IDENTITAS TIM PENGUJI

JUDUL DISERTASI:

Evaluasi Pemanfaatan Ozon untuk Menekan Aktivitas Mikroba dan Residu Antibiotik Golongan Penisilin pada Susu Segar

NAMA : Dodik Suprpto

NIM. : 177050100111008

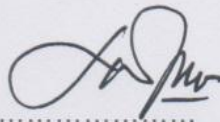
Telah diuji dan dinyatakan lulus dalam sidang ujian terbuka pada:

14 Juli 2021

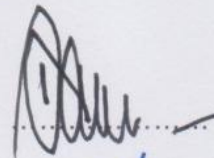
Komisi Penguji :

Tanda tangan

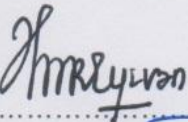
Dosen Penguji 1 :



Dosen Penguji 2 :



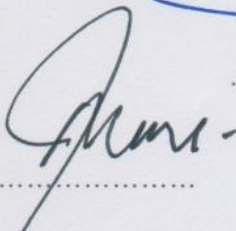
Dosen Penguji 3 :



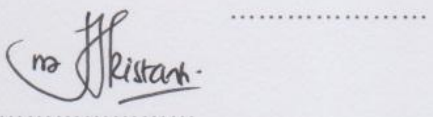
Dosen Penguji 4 :



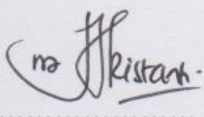
Dosen Penguji 5 :



Dosen Penguji 6 :



Dosen Penguji 7 :



PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah DISERTASI ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia DISERTASI ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (DOKTOR) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, 14 Juli 2021

Mahasiswa,



Nama : Dodik Suprpto
NIM : 177050100111008
PS : Teknologi Hasil Ternak
PPS FAPET-UB



RIWAYAT HIDUP

Dodik Suprpto, dilahirkan di Malang tanggal 17 Juni 1981 sebagai putra bungsu dari empat bersaudara dari Bapak Kapten (Anumerta) Heri Soejoto dan Ibu Sri Supatmi, mengawali pendidikan dasar di SDN Karang Tengah I Blitar lulus tahun 1993, pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Blitar lulus tahun 1996 dan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Blitar lulus tahun 1999. Penulis kemudian menempuh jenjang pendidikan tinggi di Jurusan Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya dan memperoleh gelar Sarjana Peternakan (S.Pt) pada tahun 2003, studi Magister di Pascasarjana Ilmu Peternakan Minat Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada dan memperoleh gelar Master of Science (M.Sc) pada tahun 2015, dan saat ini tengah menyelesaikan pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Ilmu Ternak Minat Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya. Berbagai penghargaan diterima penulis selama studi, diantaranya: Lulusan Terbaik pada Wisuda Sarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya dengan Predikat *Cumlaude* tahun 2003 dan Lulusan Terbaik pada Wisuda Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada dengan Predikat *Cumlaude* tahun 2015, serta *Best Presenter* pada *International Conference on Animal Production and Food Sustainability 2021* yang diselenggarakan oleh Universitas Andalas dan Universitas Udayana.

Penulis mengawali karir di industri pengolahan susu (PT. Vitindo Riz Elecrem) pada tahun 2004 sebagai Kepala Produksi, selanjutnya pada tahun 2006 sampai dengan sekarang penulis menjadi Widyaiswara dengan Spesialisasi Pasca Panen dan Pengolahan Hasil Ternak di Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu. Berbagai Modul Pelatihan Berbasis Kompetensi telah dihasilkan oleh penulis, antara lain: Mengelola Kegiatan Pengolahan Hasil Ternak, Melaksanakan Sanitasi Hygiene, dan Menerapkan Pengendalian Mutu yang diterbitkan oleh BPPSDMP, Kementerian Pertanian RI, serta beberapa tulisan ilmiah hasil penelitian yang diterbitkan di berbagai jurnal baik nasional maupun internasional. Penulis aktif berkolaborasi dengan penyuluh, peternak, UMKM, industri dan universitas khususnya di bidang pengolahan hasil ternak baik sebagai pembina, konsultan maupun pengajar. Penulis adalah owner CV. Fajar Gumilang Teknik, sebuah perusahaan yang bergerak di bidang produksi dan supplier alat mesin pertanian dan peternakan.

Malang, 14 Juli 2021

Penulis



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puja dan puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufiq hidayah dan inayah-Nya sehingga Disertasi yang berjudul **“Evaluasi Pemanfaatan Ozon untuk Menekan Aktivitas Mikroba dan Residu Antibiotik Golongan Penisilin pada Susu Segar”** ini dapat terselesaikan. Disertasi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Doktor (Dr.) dalam bidang Ilmu Ternak Minat Teknologi Hasil Ternak pada Program Pascasarjana Ilmu Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang. Penulisan Disertasi ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh paparan ozon terhadap kualitas fisiko-kimia, aktivitas mikroba dan degradasi residu antibiotik golongan Penisilin pada susu segar. Ozon (O_3) merupakan oksidator kuat dan berpotensi sebagai desinfektan yang mampu membunuh mikroba patogen, meminimalisir adanya logam berat dan residu antibiotik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah tentang pemanfaatan ozon dalam penanganan susu segar khususnya dalam menekan kehilangan hasil produksi susu akibat aktivitas mikroba dan residu antibiotik yang aman tanpa menimbulkan penurunan kualitas gizi susu segar sehingga akan berdampak pada peningkatan pendapatan dan kesejahteraan peternak, berkurangnya ketergantungan terhadap produk susu impor dan bertambah luasnya cakupan wilayah penyebaran ternak perah di Indonesia.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Lilik Eka Radiati, MS., selaku Promotor, Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS., dan Dr. Herly Evanuarini, S.Pt., MP., selaku Co-Promotor yang telah sepenuh hati dalam memberikan bimbingan, dukungan,



arahan, saran, motivasi dan ilmu yang bermanfaat selama studi, penyusunan proposal, penelitian dan penyelesaian laporan Disertasi.

- 2). Prof. Dr. Ir. Djalal Rosyidi, AP., MS., IPU., ASEAN Eng., Dr. Ir. Imam Thohari, MS., dan Dr. Agus Susilo, S.Pt, MP. IPM. ASEAN Eng., selaku dewan penguji. Terima kasih atas saran dan masukan yang berharga dalam penyusunan dan perbaikan Disertasi ini.
- 3). Prof. Dr.Sc.Agr. Ir. Suyadi, MS., IPU., ASEAN Eng., selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan selama penelitian. Prof. Dr. Ir. Lilik Eka Radiati, MS., selaku Ketua Program Doktor Ilmu Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya beserta jajarannya yang telah membantu dalam kelancaran studi.
- 4). Rektor Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan untuk menjadi bagian dari civitas akademika Universitas Brawijaya.
- 5). Badan Penyuluhan dan Pengembangan SDM Pertanian, Kementerian Pertanian RI yang telah memberikan kesempatan dan kepercayaan kepada penulis melaksanakan tugas belajar dan menerima Beasiswa Studi Pascasarjana Dalam Negeri.
- 6). Dr. drh. Rudy Rawendra, M.App.Sc., selaku Kepala Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu periode 2011-2017, yang telah mengusulkan dan memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan tugas belajar S3 di Universitas Brawijaya Malang.
- 7). Dr. Wasis Sarjono, S.Pt, M.Si., selaku Kepala Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu tahun 2018- sekarang yang telah memberikan dukungan dan kemudahan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan Disertasi.



8. Seluruh staf dan karyawan Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu, khususnya rekan-rekan Widyaaiswara. Terima kasih atas segala supportnya kepada penulis.

9. Seluruh staf pengajar dan civitas akademika Program Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya atas segala ilmu, bimbingan dan pelayanan yang telah diberikan.

10. Ayahanda (alm) Heri Soejoto, Ibunda Sri Supatmi, kakak-kakak, istri dan anak-anakku atas segala cinta, doa, restu, perjuangan dan pengorbanan yang telah dilakukan. Tanpa kalian, tak mungkin penulis mampu melangkah hingga sejauh ini.

11. Rekan-rekan seperjuangan Pascasarjana Ilmu Ternak Angkatan 2017 atas segala bantuan, dukungan dan pemikiran cerdasnya selama studi dan penelitian. Terima kasih telah menjadi Saudara baru bagi penulis.

12. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas inspirasi dan dukungannya.

Semoga amal kebaikan yang telah Bapak/Ibu lakukan diterima oleh Allah SWT. Akhir kata penulis berharap semoga Disertasi ini bermanfaat dan dapat dijadikan kajian lebih lanjut dalam pembangunan sektor peternakan khususnya di bidang pasca panen dan pengolahan susu di tanah air tercinta, INDONESIA.

Malang, 14 Juli 2021

Penulis,

Dodik Suprpto



EVALUASI PEMANFAATAN OZON UNTUK MENEKAN AKTIVITAS MIKROBA DAN RESIDU ANTIBIOTIK GOLONGAN PENISILIN PADA SUSU SEGAR

Dodik Suprpto¹⁾, Lilik Eka Radiati²⁾, Chanif Mahdi³⁾, dan Herly Evanuarini²⁾

1) Mahasiswa Program Doktor Ilmu Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang

2) Dosen Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang

3) Dosen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang

Email : dodicks19@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ozonisasi terhadap kualitas fisiko-kimia, aktivitas mikroba dan degradasi residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar. Materi yang digunakan adalah susu segar yang berasal dari ternak sehat dan ternak dalam masa pengobatan menggunakan antibiotik dengan komposisi *Amoxycillin trihydrate* 100 mg dan *Neomycin sulphate* 50 mg. Ozon diproduksi oleh generator ozon komersial merk HANACO, kapasitas produksi per menit mencapai 0,702 mg/L pada suhu 24-27 °C dengan sumber oksigen berasal dari udara bebas yang tersedia di alam. Metode yang digunakan adalah percobaan laboratorium dengan paparan ozon selama 0, 10, 20, dan 30 menit. Percobaan pertama mengevaluasi pengaruh ozonisasi terhadap berat jenis, kadar protein, kadar lemak, *electrical conductivity*, *total plate count*, dan produksi *malondialdehyde* pada susu segar. Percobaan kedua mengevaluasi pengaruh lama paparan ozon terhadap berat jenis, kadar protein, kadar lemak, analisa kualitatif dan kuantitatif residu antibiotik Penisilin pada susu segar dalam masa pengobatan. Data yang dihasilkan dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap Pola Searah dan secara deskriptif. Selanjutnya, perlakuan terbaik pada percobaan pertama dan kedua yaitu ozonisasi selama 30 menit digunakan untuk mengevaluasi degradasi residu antibiotik penisilin selama *withdrawal time* pada hari pertama, ketiga, kelima, kemudian dibandingkan dengan perlakuan tanpa ozonisasi dan dianalisis menggunakan uji beda rata-rata berpasangan. Ozonisasi tidak memberikan perbedaan nyata ($P>0,05$) terhadap berat jenis, kadar protein, dan kadar lemak pada susu dengan dan tanpa mengandung antibiotik, tetapi berbeda nyata ($P<0,05$) terhadap *electrical conductivity*, *total plate count*, produksi *malondialdehyde* pada susu yang berasal dari ternak sehat, dan degradasi residu penisilin pada susu dalam masa pengobatan antibiotik. Ozonisasi selama 30 menit dapat menurunkan residu antibiotik penisilin hingga mencapai ambang minimum cemaran yang dipersyaratkan dalam SNI 01-6366-2000 pada hari ke-5 dan memperpendek *withdrawal time* antibiotik dengan rata-rata penurunan sebesar 37,46% per hari jika dibandingkan dengan susu segar tanpa perlakuan ozonisasi. Disimpulkan bahwa paparan ozon efektif untuk menurunkan aktivitas mikroba dan residu antibiotik penisilin tanpa mengakibatkan perubahan kualitas fisiko-kimia pada susu segar.

Kata kunci: ozon, fisiko-kimia, aktivitas mikroba, antibiotik, penisilin, *withdrawal time*, susu segar.

EVALUATION OF OZONE EXPOSURES TO THE MICROBIAL ACTIVITIES AND ANTIBIOTIC RESIDUES OF PENICILLIN IN DAIRY MILK

Dodik Suprpto¹⁾, Lilik Eka Radiati²⁾, Chanif Mahdi³⁾, and Herly Evanuarini²⁾

1) Student of Animal Science Doctoral Programme, Animal Science Faculty, Brawijaya University, Malang

2) Lecturer of Animal Product Technology, Animal Science Faculty, Brawijaya University, Malang

3) Lecturer of Chemistry, Mathematics and Natural Science Faculty, Universitas Brawijaya, Malang

Email : dodicks19@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of ozone exposures to the physico-chemicals, microbial activities and Penicillin residues in dairy milk. The researched material was fresh milk from dairy cows, with and without treated using antibiotic Biomycin-M, each mL contains Amoxycillin trihydrate 100 mg and Neomycin sulphate 50 mg. The ozone was produced by a commercial ozone generator brand HANACO, the production capacity in a minute was monitored to reach 0.702 mg/L at a temperature of 24-27 °C with the oxygen source coming from ambient air in the nature. The method used was a laboratory experiment with ozone exposure for 0, 10, 20, and 30 minutes. The first experiment evaluated the effect of ozone treatments to the density, protein, fat, electrical conductivity, total plate count, and production of malondialdehyde in dairy milk. The second experiment evaluated the effect of ozone treatments to the density, protein, fat, qualitative and quantitative analysis of penicillin residues in dairy milk during antibiotic treatment. All data were analyzed using One Way Anova and descriptive analysis. Furthermore, the best treatment in the first and second experiments, namely ozonation for 30 minutes was used to evaluate degradation of Penicillin residues during withdrawal time on first, third and fifth days, then compared with treatment without ozonation and analyzed using Paired T-test. Ozonation had no significant difference ($P > 0.05$) to the density, protein, and fat both in milk with and without antibiotic treatments, but had significant ($P < 0.05$) to the electrical conductivity, total plate count, production of malondialdehyde in healthy milk, and degradation of penicillin residues in dairy milk during antibiotic treatment. Ozonation for 30 minutes possible to decrease penicillin residues up to the minimum contamination threshold required in SNI 01-6366-2000 at days of 5 and shorten withdrawal time of antibiotics with an average decrease reach 37.46% per day when compared with dairy milk without ozonation. It was concluded that ozone exposures effective to decrease microbial activities and penicillin residues without change physico-chemical properties in dairy milk.

Keywords: *ozone, physico-chemical, microbial activity, antibiotic, penicillin, withdrawal time, dairy milk.*

RINGKASAN

Dodik Suprpto, Program Doktor Ilmu Ternak, Minat Studi Teknologi Hasil Ternak, Program Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya. Evaluasi Pemanfaatan Ozon Untuk Menekan Aktivitas Mikroba dan Residu Antibiotik Golongan Penisilin Pada Susu Segar. Promotor : Prof. Dr. Ir. Lilik Eka Radiati, MS., Co-Promotor: Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS., dan Dr. Herly Evanuarini, S.Pt., MP.

Konsumsi susu masyarakat Indonesia pada tahun 2020 adalah 16,27 kilogram per kapita pertahun, jauh lebih rendah dibandingkan dengan negara ASEAN lainnya seperti Filipina 17,8 kilogram per kapita pertahun, Thailand 22,2 kilogram per kapita pertahun, Myanmar 26,7 kilogram per kapita pertahun, Malaysia 36,2 kilogram per kapita pertahun dan Singapura 48,6 kilogram per kapita pertahun. Rendahnya konsumsi susu masyarakat Indonesia selain disebabkan oleh populasi dan produksi ternak perah yang relatif rendah, juga dipengaruhi oleh faktor pola hidup dan kesadaran masyarakat akan pentingnya konsumsi susu. Saat ini, populasi sapi perah di Indonesia mencapai 543,55 ribu ekor dan menghasilkan susu segar sebanyak 909,64 ribu ton per tahun. Angka tersebut hanya mampu memenuhi 20,92 % dari total kebutuhan susu nasional yaitu sebesar 4,45 juta ton per tahun. Jika kondisi ini terus berlanjut, Indonesia semakin berpotensi terkena “*food trap*” oleh negara importir susu yang pada akhirnya akan berdampak pada stabilitas ekonomi dan kesejahteraan rakyat. Langkah yang harus dilakukan untuk memenuhi permintaan produksi susu dalam negeri adalah meningkatkan produksi susu dalam negeri dan menekan kehilangan hasil susu dengan menerapkan prinsip-prinsip *Good Dairy Practices (GDP)* dan *Good Handling Practices (GHP)*.

Produksi susu dapat ditingkatkan dengan cara menambah populasi ternak perah adalah program jangka panjang yang perlu mendapatkan perhatian serius oleh semua pihak, akan tetapi langkah tersebut bukanlah hal yang mudah. Program ini membutuhkan waktu yang lama, modal yang besar, dan tingginya ketergantungan pada negara penyedia bibit ternak perah. Program jangka pendek yang memungkinkan untuk dilakukan adalah menekan kehilangan hasil produksi susu guna menekan angka ketergantungan terhadap negara importir. Kepedulian peternak dalam menerapkan GDP dan GHP susu segar turut memberikan andil stagnannya produksi susu dalam negeri. Kehilangan hasil produksi susu di Indonesia mencapai 10% dari total produksi susu sebagian besar disebabkan oleh pemalsuan, berulangnya kejadian mastitis pada masa laktasi, tingginya kontaminasi silang dan residu antibiotik dalam susu. Oleh karena itu, diperlukan kajian lebih lanjut tentang teknologi yang efektif untuk menekan kehilangan hasil susu yang disebabkan oleh aktivitas mikroba dan residu antibiotik tanpa mengakibatkan perubahan pada kualitas fisiko-kimia susu segar, salah satunya adalah ozonisasi.

Ozon (O_3) merupakan oksidator kuat dan berpotensi sebagai bahan desinfektan yang mampu membunuh mikroba patogen, meminimalisir adanya logam berat dan residu antibiotik. Ozonisasi telah dipergunakan dalam berbagai bidang antara lain pengolahan air minum, penanganan limbah cair, sterilisasi peralatan kedokteran, industri tekstil, sterilisasi bahan pangan mentah dan pengawetan bahan makanan. Dalam industri ternak perah, teknologi ini telah diperkenalkan untuk tujuan sterilisasi karena memiliki kemampuan dalam menginaktivasi mikroba, namun belum banyak informasi tentang pemanfaatan ozon untuk menekan aktivitas mikroba dan residu antibiotik yang terdapat pada susu segar.



Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ozonisasi terhadap kualitas fisiko-kimia, aktivitas mikroba dan degradasi residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah tentang pemanfaatan ozon dalam penanganan susu segar khususnya dalam menekan kehilangan hasil produksi susu akibat aktivitas mikroba dan residu antibiotik sehingga dihasilkan susu segar yang aman dan layak untuk dikonsumsi, yang akan berdampak pada peningkatan pendapatan dan kesejahteraan peternak, berkurangnya ketergantungan terhadap produk susu impor dan bertambah luasnya cakupan wilayah penyebaran ternak perah di Indonesia.

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Juli 2019 – Juni 2020 bertempat di Divisi Ternak Perah Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu, Laboratorium Processing Susu Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu, Laboratorium Balai Besar Veteriner Wates Jogjakarta, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan Bogor.

Materi yang digunakan adalah susu segar yang berasal dari ternak sehat dan ternak dalam masa pengobatan menggunakan antibiotik dengan komposisi *Amoxycillin trihydrate* 100 mg dan *Neomycin sulphate* 50 mg. Ozon diproduksi oleh generator ozon komersial merk HANACO, kapasitas produksi per menit mencapai 0,702 mg/L pada suhu 24-27 °C dengan sumber oksigen berasal dari udara bebas yang tersedia di alam. Metode yang digunakan adalah percobaan dengan paparan ozon selama 0, 10, 20, dan 30 menit. Percobaan pertama mengevaluasi pengaruh paparan ozon terhadap berat jenis, kadar protein, kadar lemak, *electrical conductivity*, *total plate count*, dan produksi *malondialdehyde* pada susu segar dari ternak sehat. Percobaan kedua mengevaluasi pengaruh paparan ozon terhadap berat jenis, kadar protein, kadar lemak, analisa kualitatif dan kuantitatif residu antibiotik penisilin pada susu segar dari ternak dalam masa pengobatan antibiotik. Data yang dihasilkan dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap Pola Searah dan secara deskriptif. Selanjutnya, perlakuan terbaik pada percobaan pertama dan kedua yaitu paparan ozon selama 30 menit digunakan untuk mengevaluasi degradasi residu antibiotik penisilin selama *withdrawal time* pada hari pertama, ketiga, kelima, kemudian dibandingkan dengan perlakuan tanpa ozonisasi dan dianalisis menggunakan Uji Beda Rata-Rata Berpasangan.

Hasil percobaan pertama menunjukkan bahwa ozonisasi tidak memberikan perbedaan nyata ($P>0,05$) terhadap berat jenis, kadar protein, dan kadar lemak susu, tetapi memberikan perbedaan nyata ($P<0,05$) terhadap *electrical conductivity*, *total plate count*, dan produksi *malondialdehyde* susu segar yang berasal dari ternak sehat. Paparan ozon selama 0; 10; 20; 30 menit berturut-turut menghasilkan rata-rata berat jenis 1,0285 g/mL; 1,0280 g/mL; 1,0282 g/mL; 1,0288 g/mL, rata-rata kadar protein 3,39%; 3,38%; 3,40%; 3,40%, rata-rata kadar lemak 4,40%; 4,44%; 4,49%; 4,57%, rata-rata *electrical conductivity* 376,67 unit; 376,67 unit; 386,67 unit dan 400,00 unit, rata-rata *total plate count* $0,15 \times 10^6$ CFU/mL; $0,13 \times 10^6$ CFU/mL; $0,12 \times 10^6$ CFU/mL; $0,10 \times 10^6$ CFU/mL, rata-rata produksi *malondialdehyde* 0,0137 µg/mL; 0,1941 µg/mL; 0,2234 µg/mL; 0,2809 µg/mL.

Hasil percobaan kedua menunjukkan bahwa ozonisasi tidak memberikan perbedaan nyata ($P>0,05$) terhadap berat jenis, kadar protein, dan kadar lemak susu, tetapi memberikan perbedaan yang nyata ($P<0,05$) terhadap degradasi residu penisilin pada susu segar dalam masa pengobatan antibiotik. Paparan ozon selama 0; 10; 20; 30 menit berturut-turut menghasilkan rata-rata berat jenis 1,0267 g/mL; 1,0266 g/mL; 1,0266 g/mL; 1,0264 g/mL, rata-rata kadar protein



3,13%; 3,15%; 3,13%; 3,16%, rata-rata kadar lemak 3,78%; 4,29%; 3,95%; 4,49%, rata-rata residu antibiotik Penisilin 4,67 mg/kg; 4,00 mg/kg; 3,67 mg/kg; 3,43 mg/kg, sedangkan analisis kualitatif residu antibiotik pada masing-masing perlakuan menunjukkan hasil yang positif.

Hasil percobaan ketiga menunjukkan bahwa paparan ozon selama 30 menit memberikan perbedaan nyata ($P < 0,05$) terhadap degradasi residu antibiotik penisilin selama *withdrawal time* pada hari pertama; ketiga; dan kelima jika dibandingkan antara sebelum dan sesudah ozonisasi, berturut-turut menghasilkan rata-rata 4,53; 3,42 mg/kg; 3,94; 2,6 mg/kg; 1,23; 0,05 mg/kg dengan persentase penurunan residu antibiotik penisilin antara sebelum dan sesudah ozonisasi sebesar 26,55%; 34,01% dan 95,93%.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah paparan ozon efektif untuk menurunkan aktivitas mikroba dan residu antibiotik penisilin tanpa mengakibatkan perubahan kualitas fisiko-kimia pada susu segar. Paparan ozon selama 30 menit efektif menurunkan residu antibiotik Penisilin hingga mencapai ambang minimum cemaran yang dipersyaratkan dalam SNI 01-6366-2000 pada hari ke-5 dan memperpendek *withdrawal time* antibiotik dengan rata-rata penurunan sebesar 37,46% per hari jika dibandingkan dengan susu segar tanpa perlakuan ozonisasi. Paparan ozon dapat menekan kehilangan hasil produksi susu yang diakibatkan oleh aktivitas mikroba dan residu antibiotik pada susu segar.

Kata kunci: ozon, fisiko-kimia, aktivitas mikroba, antibiotik, penisilin, *withdrawal time*, susu segar.

SUMMARY

Dodik Suprpto, Student of Animal Science Doctoral Programme, Animal Science Faculty, Brawijaya University, Evaluation of Ozone Exposures to the Microbial Activities and Antibiotic Residues of Penicillin in Dairy Milk. Supervisor : Lilik Eka Radiati, Co-Supervisor: Chanif Mahdi and Herly Evanuarini.

Indonesian people's milk consumption in 2020 was 16.27 kilograms per capita per year, much lower than other ASEAN countries such as the Philippines 17.8 kilograms per capita per year, Thailand 22.2 kilograms per capita per year, Myanmar 26.7 kilograms per capita per year, Malaysia 36.2 kilograms per capita per year and Singapore 48.6 kilograms per capita per year. It wasn't not only caused by a small population of dairy cows and lower milk production in Indonesia, but also influenced by food habits and public awareness of the importance milk consumption. Currently, the population of dairy cattle in Indonesia reaches 543.55 thousand heads and produces 909.64 thousand tons of fresh milk per year. This figure was only able to meet 20.92% of the total national milk demand, which was 4.45 million tons per year. If this condition still continues, Indonesia had the potential exposed "food trap" from developed countries which have an impact on economic stability and human welfare. Strategic steps were needed to fulfill the domestic milk consumption such as increasing dairy cows population and reducing losses on milk production by applying the principles of Good Dairy Practices (GDP) and Good Handling Practices (GHP).

Enhance the population of dairy cattle for increasing milk production is a long-term programme that needs serious attention by all elements, but this step is not an easy to do. It's needed long time periods, large capitals and also highly dependence on the country providing dairy breeds. The short-term programme that possible to implement are minimize losses on milk production in order to reduce dependence on importing countries. The farmers awareness in the GDP and GHP of dairy milk also contributes to the stagnant domestic milk production. The yield loss on milk production in Indonesia reaches 10% of total milk production which is mostly cause by adulteration, repeat incidence of mastitis during the lactation period, high contamination of microorganisms and antibiotic residues. Therefore, further studies are needed about effective technologies to reduce yield loss on milk production cause by microbial activity and antibiotic residues without changes physico-chemical quality of dairy milk, that is ozonation.

Ozone (O_3) is a strong oxidizing agent and has the potential as a disinfectant that can kill pathogenic microbes, minimize the presence of heavy metals and antibiotic residues. Ozonation has been used in various fields including drinking water treatment, liquid waste treatment, sterilization of medical equipment, textile industry, sterilization of raw foodstuffs and food preservation. In the dairy industry, this technology has been introduced for sterilization because it has the ability to inactivate microbes, but there is not much information about the use of ozone to reduce microbial activities and antibiotic residues in dairy milk.

The aim of this study was to evaluate the effect of ozone exposure to the physico-chemicals, microbial activities and penicillin residues in dairy milk. The results of this study were expected to be a source of scientific information about the used of ozone exposure in the milk handling, especially to reduce the yield loss of milk production due to microbial activities and antibiotic residues to



produce fresh milk that was safe and suitable for human consumption, which will have an impact on increasing income and farmers welfare, reducing dependence on imported dairy products and increasing distribution area of dairy farm in Indonesia.

The research was carried out in July 2019 – June 2020 at the Dairy Cattle Division and Milk Processing Laboratory, National Animal Husbandry Training Center at Batu, the Laboratory of Veterinary at Wates Jogjakarta, the Pharmacology Laboratory, Medicine Faculty at Brawijaya University, and the Laboratory of Quality Control and Animal Product Certification at Bogor.

The research material was fresh milk from dairy cows, with and without treated using antibiotic Biomycin-M, each mL contains Amoxycillin trihydrate 100 mg and Neomycin sulphate 50 mg. The ozone was produced by a commercial ozone generator brand HANACO, the production capacity in a minute was monitored to reach 0.702 mg/L at a temperature of 24-27 °C with the oxygen source coming from ambient air in the nature. The method used was an experiment with ozone exposure for 0, 10, 20, and 30 minutes. The first experiment evaluated the effect of ozone exposures to the density, protein, fat, electrical conductivity, total plate count, and production of malondialdehyde in dairy milk. The second experiment evaluated the effect of ozone exposures to the density, protein, fat, qualitative and quantitative analysis of penicillin residues in dairy milk during antibiotic treatment. All data were analyzed using One Way Anova and descriptive analysis. Furthermore, the best treatment in the first and second experiments, namely ozone exposure for 30 minutes was used to evaluate degradation of penicillin residues during withdrawal time on first, third and fifth days, then compared with treatment without ozonation and analyzed using Paired T-test.

The first experiment results shown that ozonation had no significant difference ($P>0.05$) to the density, protein, and fat, but had significant ($P<0.05$) to the electrical conductivity, total plate count, and production of malondialdehyde in healthy milk. Ozone exposures for 0; 10; 20; 30 minutes resulted the average of density was 1.0285 g/mL; 1.0280 g/mL; 1.0282 g/mL; 1.0288 g/mL, the average of protein was 3.39%; 3.38%; 3.40%; 3.40%, the average of fat was 4.40%; 4.44%; 4.49%; 4.57%, the average of electrical conductivity was 376.67 units; 376.67 units; 386.67 units and 400.00 units, the average of total plate count was 0.15×10^6 CFU/mL; 0.13×10^6 CFU/mL; 0.12×10^6 CFU/mL; 0.10×10^6 CFU/mL, the average of malondialdehyde was 0.0137 g/mL; 0.1941 g/mL; 0.2234 g/mL; 0.2809 g/mL.

The second experiment results shown that of ozonation had no significant difference ($P>0.05$) to the density, protein, and fat, but had significant ($P<0.05$) to the degradation of penicillin residues in dairy milk during antibiotic treatment. Ozone exposures for 0; 10; 20; 30 minutes resulted the average of density was 1.0267 g/mL; 1.0266 g/mL; 1.0266 g/mL; 1.0264 g/mL, the average of protein was 3.13%; 3.15%; 3.13%; 3.16%, the average of fat was 3.78%; 4.29%; 3.95%; 4.49%, the average of penicillin residues was 4.67 mg/kg; 4.00 mg/kg; 3.67 mg/kg; 3.43 mg/kg, while the qualitative analysis of antibiotic residues in each treatment showed positive results.

The third experiment results shown that the ozone exposure for 30 minutes had significant ($P<0.05$) to the degradation of penicillin residues during withdrawal time on the first; third; and fifth days when compared between before and after ozonation, respectively resulted the average of Penicillin residues was 4.53:3.42 mg/kg; 3.94:2.6 mg/kg; 1.23:0.05 mg/kg with the percentage decrease of penicillin residues between before and after ozonation was 26.55%; 34.01% and 95.93%.



It was concluded that ozone exposure effective to decrease microbial activities and penicillin residues without change physico-chemical properties in dairy milk. Ozonation for 30 minutes effective to decrease penicillin residues up to the minimum contamination threshold required in SNI 01-6366-2000 at days of 5 and shorten withdrawal time of antibiotics with an average decrease reach 37.46% per day when compared with dairy milk without ozonation. Ozone exposure was possible to reduce yield loss on milk production that caused by microbial activities and antibiotic residues in dairy milk.

Keywords: ozone, physico-chemical, microbial activity, antibiotic, penicillin, withdrawal time, dairy milk.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	Halaman i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
IDENTITAS TIM PENGUJI.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK.....	ix
ABTRACT.....	x
RINGKASAN.....	xi
SUMMARY.....	xiv
DAFTAR ISI.....	xvii
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR GAMBAR.....	xx
ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Manfaat.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Teknologi Ozonisasi.....	7
2.1.1 Definisi Ozon.....	7
2.1.2 Manfaat Ozon.....	9
2.1.3 Generator Ozon.....	10
2.1.4 Mekanisme Kerja Ozon terhadap Spora.....	12
2.1.5 Mekanisme Kerja Ozon terhadap Antibiotik.....	14
2.1.6 Dekomposisi Ozon.....	16
2.2 Kualitas Susu.....	18
2.2.1 Fisiko-kimia.....	20
2.2.1.1 Berat Jenis.....	20
2.2.1.2 Kadar Protein.....	21
2.2.1.3 Kadar Lemak.....	23
2.2.2 Aktivitas Mikroba.....	24
2.2.2.1 <i>Electrical Conductivity</i>	24

2.2.2.2	Total Plate Count.....	26
2.2.2.3	Malondialdehyde.....	28
2.2.3	Antibiotik.....	30
2.2.3.1	Penggolongan Antibiotik.....	30
2.2.3.2	Antibiotik Penisilin.....	33
2.2.3.3	Bahaya Residu Antibiotik pada Susu.....	35
2.2.3.4	Degradasi Residu Antibiotik.....	37
BAB III	KERANGKA KONSEP PENELITIAN.....	39
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	39
3.2	Hipotesis.....	42
BAB IV	METODE PENELITIAN.....	44
4.1	Waktu dan Tempat Penelitian.....	44
4.2	Materi Penelitian.....	44
4.2.1	Alat.....	45
4.2.2	Bahan.....	46
4.3	Metode Penelitian.....	47
4.4	Proses Penelitian.....	48
4.5	Variabel Penelitian.....	52
4.5.1	Berat jenis, Kadar Lemak dan Kadar Protein.....	52
4.5.2	Electrical Conductivity.....	53
4.5.3	Total Plate Count.....	55
4.5.4	Produksi Malondialdehyd.....	56
4.5.5	Uji Kualitatif Antibiotik.....	57
4.5.6	Uji Kuantitatif Antibiotik.....	57
4.6	Analisis Statistik.....	58
4.7	Batasan Istilah.....	59
BAB V	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	62
5.1	Penelitian I ^A	62
5.1.1	Berat Jenis.....	62
5.1.2	Kadar Protein.....	64
5.1.3	Kadar Lemak.....	67
5.1.4	Electrical Conductivity.....	69
5.1.5	Total Plate Count.....	71
5.1.6	Produksi Malondialdehyde.....	73
5.2	Penelitian I ^B	76
5.2.1	Fisiko-kimia.....	76
5.2.2	Residu Antibiotik.....	78
5.2.2.1	Analisa Kualitatif.....	78
5.2.2.2	Analisa Kuantitatif.....	80
5.3	Penelitian II.....	83
5.3.1	Analisa Kualitatif.....	83
5.3.2	Analisa Kuantitatif.....	84
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN.....	87
6.1	Kesimpulan.....	87
6.2	Saran.....	87
DAFTAR PUSTAKA.....		89
LAMPIRAN.....		97

xviii



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1	Sifat fisika ozon.....	8
2	Waktu paruh ozon dalam udara dan air pada suhu yang berbeda	16
3	Syarat mutu susu segar SNI 01-3141-1998	20
4	Penggolongan antibiotik berdasarkan mekanisme aksi.....	31
5	Batas maksimum residu antibiotik dalam susu SNI 01-6366-2000	36
6	Interpretasi pembacaan hasil pemeriksaan susu segar menggunakan <i>Draminski Mastitis Detector</i>	54
7	Rata-rata berat jenis susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (g/mL)	62
8	Rata-rata kadar protein susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%).....	64
9	Rata-rata kadar lemak susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%).....	67
10	Rata-rata pembacaan hasil <i>Draminski Mastitis Detector</i> pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (unit)	69
11	Rata-rata <i>total plate count</i> susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (CFU/mL)	71
12	Analisa kualitatif residu antibiotik pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda.....	78
13	Analisa kualitatif residu antibiotik pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi selama 30 menit pada hari yang berbeda	83



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1	Mekanisme kerja generator ozon.....	11
2	Visualisasi efek ozon pada bakteri.....	13
3	Mekanisme reaksi yang terbentuk pada formasi produk kedua dan ketiga akibat reaksi tetrasiklin dengan ozon dalam cairan.....	15
4	Berkurangnya antibiotik pada berbagai waktu kontak.....	17
5	Mekanisme terbentuknya ROS dan radikal bebas.....	29
6	Struktur kimia antibiotik penisilin dengan berbagai grup R.....	34
7	Kerangka konsep penelitian.....	43
8	Rangkaian generator ozon.....	46
9	Penyiapan sampel penelitian.....	49
10	Diagram alir penelitian.....	51
11	Pengujian dengan <i>Lactoscan MCC</i>	53
12	Pengujian <i>electrical conductivity</i> menggunakan <i>Draminski Mastitis Detector</i>	54
13	Mekanisme reaksi ozonisasi pada <i>backbone</i> protein.....	66
14	Pengaruh ozonisasi terhadap produksi <i>malondialdehyde</i> susu segar ($\mu\text{g/mL}$).....	73
15	Produksi <i>malondialdehyde</i> pada waktu dan suhu ozonisasi yang berbeda ($\mu\text{g/mL}$).....	75
16	Pengaruh ozonisasi terhadap kualitas fisiko-kimia susu segar dalam pengobatan antibiotik.....	77
17	Pengaruh lama ozonisasi terhadap residu antibiotik penisilin (mg/kg).....	81
18	Perbandingan residu antibiotik penisilin selama <i>withdrawal time</i> pada susu segar dalam masa pengobatan antibiotik (mg/kg).....	85



ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

%	: persen
°C	: derajat celcius
°SH	: derajat soxlet henkel
α	: alpha
β	: beta
κ	: kappa
&	: dan
\$: <i>US dollar</i>
μ L	: mikroliter
μ g/mL	: mikrogram per mililiter
•OH	: radikal hidroksida
AOP	: <i>Advanced Oxidation Process</i>
ASEAN	: <i>Assosiation of South East Asian Nations</i>
atm	: atmosfer
BSN	: Badan Standarisasi Nasional
dkk.	: dan kawan-kawan
C14	: miristat
C16	: palmitat
C18	: stearat
C=C	: ikatan rangkap pada sesama atom C
C=N	: ikatan rangkap pada atom C dan N
CFU/mL	: <i>Colony Forming Unit per mililiter</i>
DNA	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
EC	: <i>Electrical Conductivity</i>
ER	: <i>Electrical Resistance</i>
<i>et al.</i>	: <i>and others</i>
FAO	: <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
g/L	: gram per liter
g/cm ³	: gram per centimeter kubik
g/m ³	: gram per meter kubik
g/mol	: gram per molekul
GDP	: <i>Good Dairy Practices</i>
GHP	: <i>Good Handling Practices</i>
H ₂ O ₂	: hidrogen peroksida
HCL	: hidrogen klorida
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPLC/MS	: <i>High Performance Liquid Chromatography Mass Spectroscopy</i>
HPLC/UV	: <i>High Performance Liquid Chromatography Ultra Violet</i>
IPS	: Industri Pengolahan Susu
KCKT	: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KH ₂ PO ₄	: Monopotasium fosfat
kPa	: <i>kilo Pascal</i>
kV	: <i>kilo Volt</i>
LPG	: <i>Liquid Petroleum Gas</i>
m ³ /kg	: meter kubik per kilogram
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
mg	: miligram
ml	: mililiter
mg/jam	: miligram per jam



mg/kg	: miligram per kilogram
mg/L	: miligram per liter
mg/menit	: miligram per menit
N=N	: ikatan rangkap pada atom N
nm	: <i>nanometer</i>
NO	: nitrogen oksida
OKI	: Organisasi Kerjasama Islam
O*	: radikal oksigen
O	: oksigen tunggal
O ₂	: oksigen
O ₂ ⁻	: superoksida anion
O ₃	: ozon
O _n	: onasen
P<0,05	: berbeda nyata
P>0,05	: tidak berbeda nyata
PC	: Penisilin
PCA	: <i>Plate Count Agar</i>
pH	: <i>potential of hydrogen</i>
ppm	: <i>part permillion</i>
PTFE	: <i>polytetrafluoroethylene</i>
PUFA	: <i>polyunsaturated fatty acid</i>
sel/mL	: sel per milliliter
RH	: <i>Relative Humidity</i>
RI	: Republik Indonesia
RNA	: <i>ribonucleic acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	: <i>rotation per minute</i>
SCC	: <i>Somatic Cell Count</i>
SNF	: <i>Solid Non Fat</i>
SNI	: Standar Nasional Indonesia
sp.	: <i>species</i>
SPSS	: <i>Statistical Program for Social Science</i>
TBA	: <i>thiobarbituric acid</i>
TCA	: <i>trichloroacetic acid</i>
TPC	: <i>Total Plate Count</i>
TOC	: <i>Total Organic Carbon</i>
TS	: <i>Total Solid</i>
UHT	: <i>Ultra High Temperature</i>
UV	: ultra violet
UV Vis	: <i>ultra violet visible spectroscopy</i>
VA	: <i>volt amphere</i>



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pertambahan populasi penduduk, urbanisasi dan pendapatan rumah tangga di suatu negara selalu berkorelasi positif terhadap bertambahnya permintaan produk peternakan dan hasil olahannya, salah satu diantaranya adalah susu. Susu merupakan bahan pangan yang mempunyai kandungan nutrisi yang lengkap dan dibutuhkan oleh tubuh. Sebagaimana termaktub dalam Pembukaan Undang-Undang Dasar 1945 yaitu “mencerdaskan kehidupan bangsa”, susu dan hasil olahannya mempunyai peran strategis dalam menunjang penciptaan sumber daya manusia yang berkualitas, akan tetapi konsumsi susu masyarakat Indonesia saat ini masih rendah jika dibandingkan negara Asia Tenggara lainnya. Berdasarkan Pusat Data dan Informasi Pertanian Sekretaris Jenderal Kementerian Pertanian (2020), konsumsi susu masyarakat Indonesia adalah 16,27 kilogram per kapita pertahun. Angka tersebut masih lebih rendah dibandingkan dengan negara ASEAN lainnya seperti Filipina 17,8 kilogram per kapita pertahun, Thailand 22,2 kilogram per kapita pertahun, Myanmar 26,7 kilogram per kapita pertahun, Malaysia 36,2 kilogram per kapita pertahun dan Singapura 48,6 kilogram per kapita pertahun. Penyebab rendahnya konsumsi susu di Indonesia selain disebabkan oleh populasi ternak perah yang masih sedikit dan berdampak pada produksi susu yang rendah, juga dipengaruhi oleh faktor pola hidup dan kesadaran masyarakat akan pentingnya konsumsi susu.

Populasi sapi perah di Indonesia pada tahun 2018 mencapai 543,55 ribu ekor dan menghasilkan susu segar sebanyak 909,64 ribu ton per tahun. Angka



tersebut hanya mampu memenuhi 20,92 % dari total kebutuhan susu nasional yaitu sebesar 4,45 juta ton per tahun. Adapun kehilangan hasil susu mencapai 10% dari total produksi susu (Suprpto and Fanani, 2018) yang sebagian besar disebabkan oleh adanya pemalsuan, berulangnya kejadian mastitis dalam periode laktasi, tingginya cemaran mikroba dan adanya residu antibiotik (Setyawati dan Suprpto, 2017). Jika kondisi ini berlanjut, Indonesia semakin berpotensi terkena “food trap” oleh negara maju yang pada akhirnya akan berdampak pada stabilitas ekonomi dan kesejahteraan rakyatnya. Oleh karena itu, untuk memenuhi permintaan produksi susu dalam negeri maka produksi harus ditingkatkan dan kehilangan hasil harus diminimalkan dengan menerapkan prinsip-prinsip *Good Dairy Practices (GDP)* dan *Good Handling Practices (GHP)*.

Penambahan populasi ternak perah untuk meningkatkan produksi susu adalah program jangka panjang yang perlu mendapatkan perhatian serius oleh semua pihak, akan tetapi langkah tersebut bukanlah hal yang mudah. Selain membutuhkan waktu yang cukup lama, ketergantungan pada negara penyedia bibit ternak perah juga sangat tinggi. Program jangka pendek yang paling mungkin untuk dilakukan adalah menekan kehilangan hasil produksi susu guna menekan angka ketergantungan terhadap negara importir. Sehubungan hal tersebut di atas, dipandang perlu untuk melakukan kajian lebih lanjut tentang teknologi yang mampu menekan kehilangan hasil susu tanpa mengakibatkan perubahan pada kualitas susu segar yang dihasilkan, salah satunya adalah teknologi ozonisasi.

Menurut Rusdi dan Sulliasih (2002), ozon (O_3) merupakan gas yang terdiri dari tiga atom oksigen dan memiliki masa seberat 48 gram/mol, bersifat labil dan cepat sekali terurai menjadi oksigen normal yang mempunyai dua atom atau O_2



dan satu atom oksigen bebas atau Onasen (O_n). Kelarutan ozon 20 kali lebih besar daripada oksigen, mempunyai bau khas sehingga mudah untuk mendeteksinya meskipun konsentrasinya rendah (0,01-0,05 ppm). Menurut Garcia *et al.* (2003), konsentrasi ozon sebesar 0,5 mg/L mampu membunuh mikroba yang menempel pada sayuran dan buah-buahan. Ozon merupakan oksidator kuat dan berpotensi sebagai bahan desinfektan yang mampu membunuh mikroba patogen seperti bakteri, virus, jamur (Asgar, 2014), meminimalisir adanya logam berat dan residu antibiotik pada produk pangan (Haifan, 2017 ; Dalmazio *et al.*, 2007). Ozon banyak dimanfaatkan untuk membunuh *algae* dan mengoksidasi bahan organik sehingga dapat menghilangkan rasa, bau dan warna yang tidak diinginkan akibat reaksi bahan organik di alam. Ozon dapat mengoksidasi besi dan mangan, menguraikan sulfat, menguraikan surfaktan dan menghilangkan kekeruhan. Ozon lebih kuat dalam menginaktivasi virus dibandingkan dengan klorin (Rusdi dan Suliasih, 2002).

Pemanfaatan teknologi ozonisasi sangat menguntungkan dan potensial untuk dikembangkan karena murah (*low cost*), mudah dalam pengoperasiannya (*easy process*), aman (*safety*) dan ramah lingkungan (*eco friendly*). Ozon dapat diproduksi dengan memanfaatkan oksigen yang tersedia di alam dengan bantuan lampu ultraviolet atau kejut listrik bertegangan tinggi yang diletakkan di dalam reaktor sehingga aman bagi manusia. Sifat ozon yang tidak stabil dan mudah terurai menjadikan ozon tidak meninggalkan residu pada media yang kontak langsung maupun lingkungan sekitar (Cavalcante *et al.*, 2013); Lenntech, 2018; Ozone solutions, 2021). Ozon juga mempunyai beberapa kekurangan, jika digunakan dengan konsentrasi yang berlebihan dapat menimbulkan ledakan, menghasilkan bau yang tajam, korosif, dan bersifat toksik apabila masuk ke



dalam tubuh (Metcalf and Eddy, 2003). Oleh karenanya, pemanfaatan teknologi ozonisasi harus dilakukan secara bijak dengan menggunakan konsentrasi yang tepat agar nilai manfaat yang diberikan dapat memberikan hasil yang optimal dan aman bagi manusia.

Teknologi ozonisasi saat ini semakin berkembang dan telah dipergunakan dalam berbagai bidang antara lain pengolahan air minum, penanganan limbah cair, sterilisasi peralatan kedokteran, industri tekstil, sterilisasi bahan pangan mentah dan pengawetan bahan makanan (Haifan, 2017). Beberapa penelitian tentang ozon dan aplikasinya dalam industri ternak perah dari hulu sampai hilir telah dilakukan khususnya untuk tujuan sterilisasi dan menekan aktivitas mikroba. Pemanfaatan ozon di sektor hulu dilakukan oleh Ogata and Nagahata (2000), hasil penelitian menunjukkan bahwa 61% sapi perah yang menderita mastitis klinis dapat disembuhkan tanpa antibiotik dengan menggunakan ozon yang diinfuskan ke dalam kelenjar susu. Guzel-Seydim *et al.* (2000) menyebutkan bahwa air dingin pada suhu 10 °C yang terozonisasi selama 15 menit dapat melarutkan residu susu dan biofil bakteri pada peralatan berbahan stainless steel hingga mencapai 84%. Pemanfaatan ozon dalam penanganan susu segar juga telah dilakukan oleh Sheelamary and Muthukumar (2011), paparan ozon selama 15 menit dengan laju 0,2 g/jam efektif untuk menghancurkan *Listeria monocytogenes* dalam susu segar dengan rata-rata 5,5 dan 5,7 log₁₀ CFU/mL, sedangkan Cavalcante *et al.* (2013) melaporkan bahwa ozonisasi dengan 1,5 mg/L selama 15 menit dapat menghilangkan jumlah bakteri dan jamur hingga 1 log₁₀ CFU/mL. Sedangkan pemanfaatan ozon di sektor hilir menyebutkan bahwa paparan ozon pada konsentrasi 2,8 mg/L atau 5,3 mg/L selama 0,5-2 jam efektif untuk menghancurkan sel *Cronobacter sakazakii* ATCC



51329 dalam susu bubuk, terutama dalam susu skim. Kedua tingkat ozon mengurangi jumlah *Cronobacter* dalam susu bubuk skim sekitar $3 \log_{10}$ setelah 120 menit (Torlak and Sert, 2013). Uraian diatas menggambarkan bahwa paparan ozon memiliki kemampuan untuk menonaktifkan mikroorganisme, tetapi belum banyak informasi tentang pengaruh ozon terhadap kualitas fisiko-kimia dan degradasi residu antibiotik pada susu segar.

Berbagai cara konvensional telah dilakukan untuk menurunkan aktivitas mikroba dan residu antibiotik pada susu segar yaitu dengan pemanasan (Zorraquino *et al.*, 2011; Harlia dkk., 2014; Kellnerova *et al.*, 2015), akan tetapi perlakuan tersebut memiliki dampak negatif yaitu rusaknya nutrisi yang terdapat pada susu akibat paparan panas yang tinggi dengan durasi waktu yang lama. Karakteristik ozon sebagai desinfektan diharapkan dapat dimanfaatkan untuk menekan aktivitas mikroba dan mendegradasi residu antibiotik khususnya golongan penisilin pada susu segar tanpa menimbulkan kerusakan nutrisi yang terkandung di dalamnya.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah teknologi ozonisasi dapat menurunkan kualitas fisiko-kimia dan cemaran pada susu segar yang disebabkan oleh aktivitas mikroba?
2. Apakah teknologi ozonisasi dapat menurunkan kualitas fisiko-kimia dan mendegradasi residu antibiotik penisilin pada susu segar selama pengobatan dengan antibiotik?
3. Apakah teknologi ozonisasi dapat memperpendek *withdrawal time* antibiotik penisilin pada susu segar?



1.3 Tujuan

1. Penelitian ^A bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ozonisasi terhadap kualitas fisiko-kimia dan aktivitas mikroba pada susu segar yang berasal dari ternak sehat.
2. Penelitian ^B bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ozonisasi terhadap kualitas fisiko-kimia dan residu penisilin pada susu segar yang berasal dari ternak dalam masa pengobatan menggunakan antibiotik.
3. Penelitian II bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh ozonisasi terhadap degradasi residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar selama *withdrawal time*.

1.4 Manfaat

1. Tersedianya teknologi alternatif untuk menekan angka cemaran mikroba dan mendegradasi residu antibiotik penisilin tanpa mengakibatkan kerusakan nutrisi pada susu segar.
2. Sumber informasi ilmiah tentang teknologi ozonisasi yang diaplikasikan dalam penanganan susu segar yang berasal dari ternak dalam masa pengobatan menggunakan antibiotik sehingga dihasilkan susu segar yang aman dan layak untuk dikonsumsi.
3. Berkurangnya kehilangan hasil pada peternakan sapi perah akibat tingginya cemaran mikroba dan residu antibiotik pada susu segar sehingga berdampak pada peningkatan pendapatan dan kesejahteraan peternak, berkurangnya angka ketergantungan terhadap produk susu impor dan bertambah luasnya cakupan wilayah penyebaran ternak perah di Indonesia.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teknologi Ozonisasi

2.1.1 Definisi Ozon

Ozon adalah molekul triatomik, terdiri dari tiga atom oksigen dan merupakan gas yang tidak stabil, yang diproduksi ketika molekul oksigen berdisosiasi menjadi atom oksigen. Ozon merupakan gas berwarna biru dan memiliki bau yang tajam pada suhu ruang. Ozon bisa dideteksi oleh hidung manusia pada konsentrasi 0,01-0,05 ppm. Ozon dapat meledak pada saat konsentrasinya mencapai 240 g/m^3 atau 20% di udara (Metcalf and Eddy, 2003). Ozon ditemukan dalam konsentrasi rendah di alam yaitu sekitar 0,02-0,03 ppm. Konsentrasinya ozon lebih tinggi pada daerah industri hingga mencapai 0,05 ppm karena terjadinya reaksi gas oksigen di udara oleh sinar matahari dengan adanya partikel-partikel asap pabrik (Pikatan, 2008). Ozon mempunyai waktu paruh lebih lama ketika berupa gas dibandingkan dalam larutan yang mengandung air. Ozon merupakan senyawa yang tidak stabil dan pada suhu ruang akan terdekomposisi dengan cepat menjadi oksigen, dan laju dekomposisinya akan bertambah besar sesuai dengan kenaikan suhu dan pH. Selain itu, kelarutan ozon dalam air juga sebanding dengan waktu kontak yang diperlakukan. Oleh karena itu, ozon harus dibuat dalam generator ozon yang jaraknya cukup dekat dengan instalasi pengolahan air minum (Rice and Browning, 1981). Menurut Metcalf and Eddy (2003), ozon dapat terbentuk melalui radiasi ultraviolet pancaran sinar matahari yang menyebabkan penguraian gas oksigen di udara bebas (proses fotolisis). Atom oksigen (O) yang terurai



akan saling bertumbukan dengan molekul oksigen (O_2) yang ada di sekitarnya sehingga terbentuklah ozon (O_3). Peristiwa ini terjadi pada lapisan atmosfer paling atas (stratosfer) yang sering disebut sebagai lapisan ozon. Molekul ozon yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan selalu berusaha melepaskan satu atom oksigen dengan cara oksidasi sehingga dapat berubah menjadi molekul oksigen (O_2) yang stabil. Sifat oksidator yang dimiliki ozon ini kemudian dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi. Sifat fisika ozon dapat dilihat pada Tabel 4 berikut ini :

Tabel 1. Sifat fisika ozon (Metcalf and Eddy, 2003).

No.	Karakteristik	Nilai
1.	Berat molekul (g/mol)	48
2.	Densitas (0°C , 1 atm) (g/L)	1,666
3.	Titik leleh ($^\circ\text{C}$)	192,5
4.	Suhu kritis ($^\circ\text{C}$)	-12,1
5.	Titik didih ($^\circ\text{C}$)	-111,9
6.	Volume spesifik (0°C , 1 atm) (m^3/kg)	0,464
7.	Tekanan kritis (kPa)	5532,3

Ozonisasi merupakan proses bereaksinya ozon dengan substansi lain dalam fasa cair yang didahului absorpsi ozon pada fasa cair tersebut (Asgar, 2014). Ozonisasi pada bahan organik dipengaruhi oleh pH (Varga and Szigeti, 2016). Pada pH rendah, ozon akan bereaksi dengan senyawa yang memiliki gugus spesifik melalui reaksi selektif seperti elektrofilik, nukleofilik, atau reaksi penambahan dipolar (ozonisasi langsung). Umumnya, ozonisasi langsung mendominasi pada pH rendah ($\text{pH} < 4$), ozonisasi langsung dan tidak langsung terjadi pada pH 4-9, dan ozonisasi tidak langsung mendominasi pada $\text{pH} > 9$ (Peratitus, 2003).



2.1.2 Manfaat Ozon

Penggunaan ozon dalam pengolahan air minum telah banyak diaplikasikan di seluruh dunia. Ozon digunakan pada pengolahan air karena ozon dapat merusak racun organik, mengendapkan logam berat dan logam kompleks, merusak sianida dan mengoksidasi amoniak. Semua potensi pengolahan ini bisa diatasi hanya dengan satu sistem pengolahan yaitu dengan menggunakan ozon (Ball, 1997). Ozon memiliki dua fungsi utama yaitu oksidator dan disinfektan (Varga and Szigeti, 2016). Dalam pengolahan air, ozon sangat efektif dalam menghilangkan rasa dan bau yang disebabkan oleh material organik dan material anorganik yang bisa dioksidasi seperti ion besi, mangan, dan sulfida. Konsentrasi ozon yang dibutuhkan dan waktu reaksi tergantung pada tipe dan konsentrasi polutan dalam air yang bisa dioksidasi. Ozon juga merupakan disinfektan yang paling efisien yang digunakan dalam pengolahan air minum karena dapat menginaktivasi beberapa mikroba, seperti protozoa, yang sulit diinaktivasi oleh disinfektan lainnya (Lenntech, 2018).

Menurut Garcia *et al.* (2003), penggunaan konsentrasi ozon 0,5 mg/L mampu membunuh mikroba yang menempel pada sayuran dan buah-buahan. Konsentrasi ozon yang biasa digunakan untuk proses sterilisasi antara 0,5-0,8 mg/L. Demikian juga, perlakuan air berozon sangat efektif dalam menurunkan populasi mikroba, sehingga dapat meningkatkan umur simpan sayuran seledri potong dan selada. Pada konsentrasi ozon 0,4 mg/L dapat memperpanjang masa simpan sayuran brokoli dan mentimun pada suhu penyimpanan 3 °C (Skog *et al.*, 2001). Perlakuan ozon pada penyimpanan buah berry dapat menekan

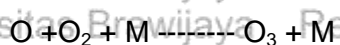
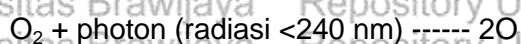


pertumbuhan jamur selama 12 hari, sedangkan pada buah pada kontrol (tanpa perlakuan ozon) terjadi kerusakan sebanyak 20% (Barth *et al.*, 2006). Pada penyimpanan buah kesemek, konsentrasi ozon sebesar 0,15 mg/L dapat menjaga kekerasan meskipun telah disimpan selama 30 hari pada suhu 15 °C dan RH 90%. Salvador *et al.*, (1999) melaporkan bahwasannya perlakuan ozon tidak menimbulkan luka *phytotoxic* dalam jaringan kesemek.

Selain dimanfaatkan dalam industri pengolahan air, ozon juga dapat digunakan untuk sterilisasi bahan makanan mentah, pengawetan bahan makanan, penggelantangan (*bleaching*) pada pabrik tekstil, pulp dan kertas, pengolahan limbah cair dari industri dan hasil pemurnian minyak, mengontrol bau dan warna, pembuatan *ultrapure water* pada industri elektronik, serta *laundry* untuk kepentingan industri atau komersial (Gunten, 2003; Haifan, 2017; Alsager *et al.*, 2018;). Dalam bidang kedokteran, ozon digunakan untuk sterilisasi peralatan kedokteran. Ozon juga digunakan untuk memperlancar jalannya aliran darah dan perawatan kulit terbakar (Prihatinningtyas, 2006).

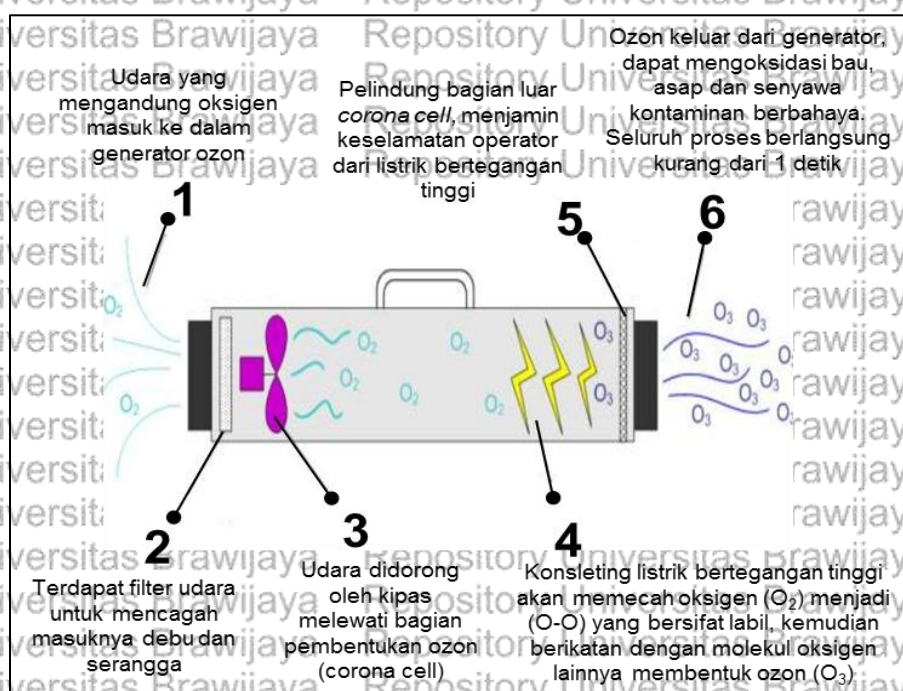
2.1.3 Generator Ozon

Ozon di udara bebas terbentuk ketika dua atom oksigen (O_2) pecah dan terpisah menjadi radikal bebas oksigen (O^*) yang berikatan dengan O_2 membentuk ozon (O_3), dengan reaksi sebagai berikut:





Ozon diproduksi ketika molekul oksigen (O_2) terdisosiasi oleh sumber energi menjadi atom oksigen dan kemudian bertumbukan dengan molekul oksigen membentuk gas yang tidak stabil yaitu ozon (O_3). Untuk menghasilkan ozon pada ozon generator umumnya menggunakan listrik arus bolak balik bertegangan tinggi antara 6-20 kV sepanjang *dielectric discharge* yang mengandung bantalan gas oksigen (Agustini dan Reinoviar, 2011). Mekanisme kerja generator ozon menurut Lenntech (2018) selengkapnya disajikan dalam Gambar 1 berikut ini:



Gambar 1. Mekanisme kerja generator ozon (Lenntech, 2018).

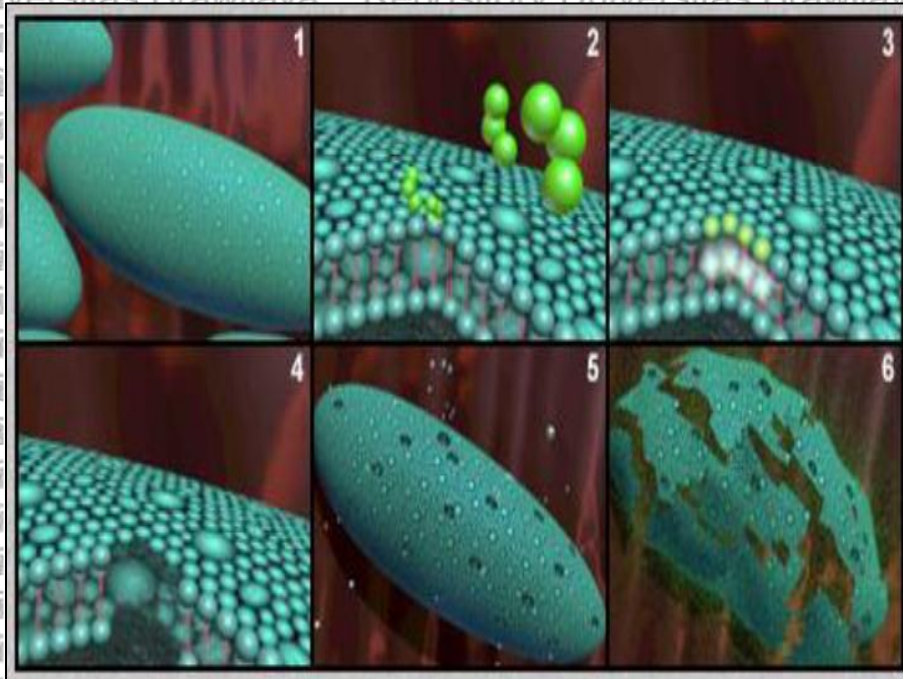
Menurut Zheng et al., (2017), prinsip utama pembentukan ozon dalam generator ozon yaitu menggunakan sinar ultraviolet dan pelepasan korona (*corona discharge*). Pembentukan ozon melalui pelepasan korona adalah metode yang paling banyak digunakan karena memiliki banyak keuntungan diantaranya yaitu mampu memproduksi ozon dalam jumlah besar secara berkelanjutan dengan efektifitas tinggi namun membutuhkan



biaya produksi yang relatif rendah (Ozone solutions, 2021). Elemen pelepasan korona dalam generator ozon akan memberikan beban kapasitif. Ozon dihasilkan dari oksigen sebagai akibat langsung dari pelepasan listrik. Pelepasan korona ini memecah molekul oksigen yang stabil dan membentuk dua radikal oksigen (O^*). Radikal ini dapat bergabung dengan molekul oksigen untuk membentuk ozon. Untuk mengontrol dan menjaga pelepasan listrik, terdapat *dielectric* yang terbuat dari keramik atau kaca. Panas berlebih pada elektroda didinginkan dengan air atau udara berpendingin. Udara ambien yang disuplai oleh kompresor atau oksigen murni yang disuplai oleh tabung oksigen dialirkan untuk memproduksi ozon. Oksigen selanjutnya dialirkan melalui pengering udara dan penyaring debu. Perusak ozon digunakan pada bagian akhir alat untuk memecah ozon yang tersisa setelah digunakan. Penggunaan katalis seperti magnesium oksida dapat digunakan untuk mempercepat dekomposisi ozon menjadi oksigen. Faktor penting yang mempengaruhi pembentukan ozon antara lain: konsentrasi dan kemurnian oksigen yang masuk, kelembaban, suhu air atau udara pendingin dan tegangan listrik yang digunakan (Lenntech, 2018).

2.1.4 Mekanisme Kerja Ozon Terhadap Aktivitas Mikroba

Mekanisme penghancuran dinding sel mikroba oleh ozon (Lenntech, 2018) dapat dijelaskan oleh Gambar 2.



Gambar 2. Visualisasi efek ozon pada mikroba. (1) gambar sel mikroba dengan visualisasi komputer; (2) molekul ozon mendekati dinding sel mikroba; (3) ozon melakukan penetrasi pada dinding sel mikroba; (4) terbentuknya lubang yang ditimbulkan oleh molekul ozon pada dinding sel mikroba; (5) permeabilitas dinding sel mikroba semakin menurun; (6) sel mikroba mengalami lisis. (Lenntech, 2018).

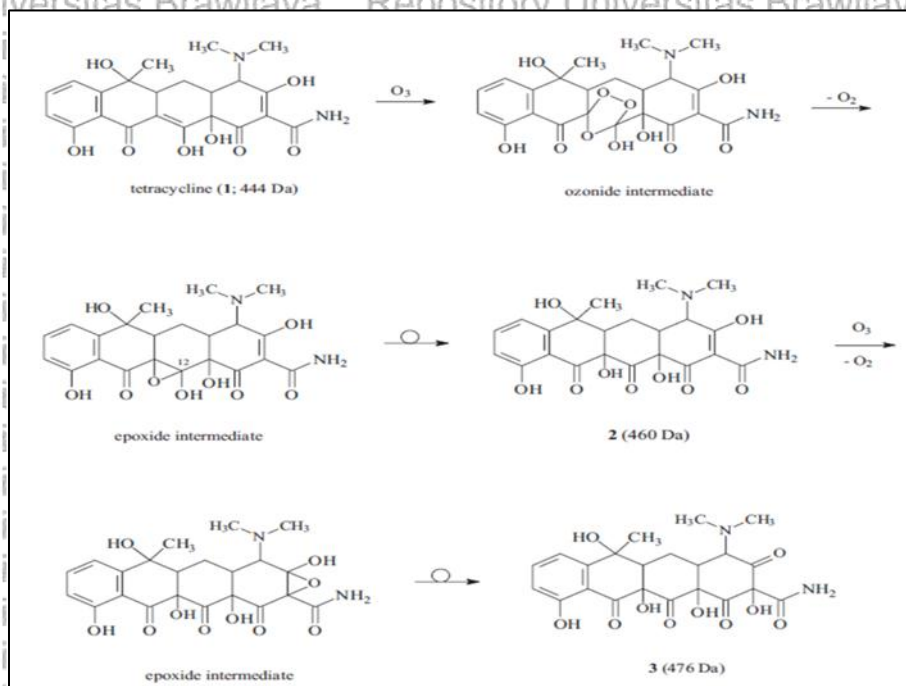
Sifat oksidasi pada ozon dihasilkan dari oksigen yang mulai terbentuk saat dekomposisi ozon (*nascent oxygen*). *Nascent oxygen* ini dapat mengoksidasi membran sel mikroba, sehingga mengakibatkan terjadinya lisis dan kematian sel mikroba. Konsentrasi ozon yang dialirkan dengan kadar tertentu dan meningkatnya waktu pengaliran akan meningkatkan jumlah mikroba yang dibunuh. Selain itu, dosis ozon yang diinjeksikan sebanding dengan jumlah *nascent oxygen* yang terbentuk dan jumlah mikroba yang mati (Jyoti and Pandit, 2004). Ozon dilaporkan dapat mendeaktivasi spora bakteri dengan menghambat proses germinasinya (Young and Setlow, 2004). Penggunaan konsentrasi ozon



sebanyak 0,5 mg/L mampu membunuh mikroba yang menempel pada sayuran dan buah-buahan (Garcia *et al.*, 2003).

2.1.5 Mekanisme Kerja Ozon Terhadap Antibiotik

Dalmazio *et al.*, (2007) menjelaskan bahwa dalam larutan air, ozon dapat bereaksi dengan senyawa organik dengan cara mengarahkan 1,3-*dipolar cycloaddition* ke ikatan rangkap ($C=C$, $C=N$, $N=N$) dan generasi *in situ* radikal hidroksil yaitu senyawa reaktif yang terbentuk selama penguraian ozon khususnya pada pH tinggi. Pembentukan produk oksidasi akan melibatkan 1,3-*dipolar cycloaddition* dari senyawa elektrofilik ozon menuju ikatan rangkap C11a-C12 seperti pada kasus ikatan rangkap dalam tetrasiklin, sehingga menghasilkan *epoxide intermediate* yang tidak stabil. Selanjutnya *epoxide intermediate* mengalami penataan ulang yang cepat, difasilitasi oleh kehadiran hidroksil grup pada posisi C12 untuk membentuk produk kedua. Reaksi ozon pada ikatan rangkap C2-C3 dari produk (2) melalui mekanisme yang identik menghasilkan produk ketiga, seperti tampak pada Gambar 3.



Gambar 3. Mekanisme reaksi yang terbentuk pada formasi produk kedua dan ketiga akibat reaksi tetrasiklin dengan ozon dalam cairan (Dalmazio *et al.*, 2007).

Pembentukan beragam produk teroksidasi oleh reaksi ozon pada cincin benzena produk pertama. Selanjutnya, produk tambahan terbentuk melalui penyisipan atom oksigen pada posisi yang berbeda di produk pertama juga tidak terjadi karena kurangnya situs di molekul yang mudah diserang oleh ozon (Dodd *et al.*, 2006). Atom oksigen pada gugus keto-karbonil dan kelompok hidroksil mempunyai peran penting dalam aktivitas antibakteri tetrasiklin, meskipun mekanisme lengkap sejauh ini tidak diketahui. Produk oksidasi kedua dan ketiga dapat menunjukkan aktivitas serupa (atau bahkan lebih tinggi) daripada tetrasiklin apabila atom oksigen dari gugus keto-karbonil dan kelompok hidroksil dipertahankan dalam struktur mereka. *9-hydroxy tetracycline* yang memiliki aktivitas antibiotik lebih besar dibandingkan tetrasiklin, namun karena polaritas dan kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan tetrasiklin, maka *9-hydroxy*



tetracycline mudah terdispersi dalam cairan secara cepat dengan efek yang tidak dapat diprediksi (Dalmazio *et al.*, 2007).

2.1.6 Dekomposisi Ozon

Ozon terdekomposisi dalam cairan pada pH 6-8,5 yang disebabkan oleh radikal ($\cdot\text{OH}$) reaktif. Oleh karenanya, dalam proses ozonisasi selalu melibatkan dua reaksi spesifik yaitu ozon dan radikal ($\cdot\text{OH}$) reaktif. Proses oksidasi lanjutan terjadi saat radikal ($\cdot\text{OH}$) reaktif berada di partikel dominan dalam larutan. Dekomposisi ozon dalam radikal ($\cdot\text{OH}$) di air diawali dengan penurunan ozon yang sangat cepat, diikuti oleh fase kedua saat ozon menurun akibat kinetik orde pertama (Gunten, 2003). Faktor-faktor yang mempengaruhi dekomposisi ozon dalam air adalah suhu, pH, lingkungan dan konsentrasi zat terlarut dan sinar UV (Lenntech, 2018). Sesaat setelah diproduksi, ozon akan terurai dengan cepat karena ozon merupakan senyawa yang tidak stabil dengan waktu paruh yang relatif singkat (Ozone solutions, 2021). Adapun waktu paruh ozon dalam air jauh lebih pendek daripada di udara (lihat Tabel 2).

Tabel 2. Waktu paruh ozon dalam udara dan air pada suhu yang berbeda (Lenntech, 2018).

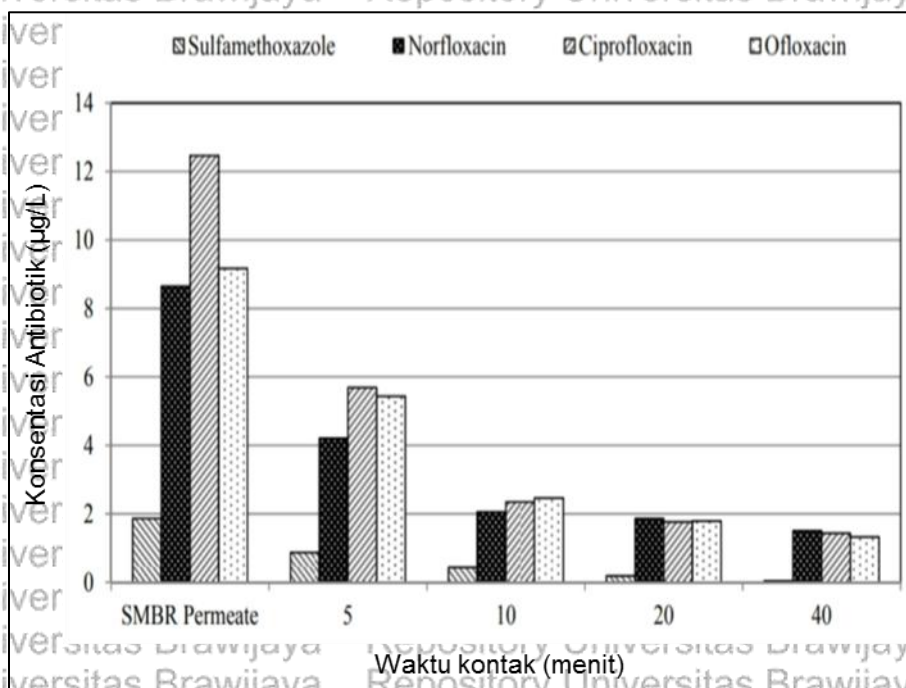
Udara		Terlarut dalam Air (pH 7)	
Suhu (°C)	Waktu paruh	Suhu (°C)	Waktu paruh
-50	3 bulan	15	30 menit
-35	18 hari	20	20 menit
-25	8 hari	25	15 menit
20	3 hari	30	12 menit
120	1,5 jam	35	8 menit
250	1,5 detik		

Menurut Quyen *et al.*, (2016), antibiotik mampu dihilangkan dengan cepat ketika waktu kontak ditingkatkan dari 0 hingga 10 menit,



akan tetapi peningkatan waktu kontak selama 20 dan 40 menit guna meningkatkan konsentrasi ozon tidak banyak memberikan perubahan terhadap penurunan konsentrasi antibiotik seperti tampak pada Gambar 4.

4. Proses ozonisasi bekerja dengan baik terhadap penurunan konsentrasi antibiotik pada membran bioreaktor. Perlakuan pada pH 8,5 dengan waktu kontak selama 10 menit akan menghasilkan ozon sebanyak 3,34 mg/L secara signifikan menurunkan konsentrasi antibiotik jenis Sulfamethoxazole, Norfloxacin, Ciprofloxacin dan Ofloxacin hingga 70%.



Gambar 4. Berkurangnya antibiotik pada berbagai waktu kontak (Quyen *et al.*, (2016)).

Degradasi tetrasiklin akibat paparan ozon dalam cairan telah diselidiki (Dalmazio *et al.*, 2007). Metode *high performance liquid chromatography (HPLC)*, *UV-visible spectroscopy (UV-Vis)*, dan *total organic carbon (TOC)* menunjukkan bahwa ozon (O_3) mengakibatkan tetrasiklin cepat terurai di bawah kondisi oksidatif, tetapi tidak



mengakibatkan mineralisasi tetrasiklin atau pembentukan produk samping. Pemantauan berkelanjutan menggunakan *electrospray ionization mass spectrometry* dalam mode ion positif, menunjukkan bahwa tetrasiklin terdeteksi dalam bentuk terprotonasi bereaksi menghasilkan dua produk oksidasi eksklusif melalui penyisipan satu dan dua atom oksigen. Terbentuknya produk oksidasi eksklusif diawali dengan pembentukan *1,3-dipolar cycloaddition* dari ozon pada ikatan rangkap C11a-C12, dan dipromosikan melalui serangan ozon berikutnya pada ikatan ganda C2-C3 yang terdeteksi dalam bentuk terprotonasi.

2.2 Kualitas Susu

Susu segar adalah susu murni yang tidak mendapat perlakuan apapun kecuali proses pendinginan tanpa mempengaruhi kemurniannya. Susu murni yang dimaksudkan adalah cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih, yang diperoleh dengan cara yang benar yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun (BSN, 2011). Susu memiliki kandungan gizi yang tinggi dan merupakan bahan makanan sempurna karena mengandung hampir semua zat gizi yang diperlukan tubuh manusia dalam jumlah yang cukup dan seimbang (Rahman *et al.*, 1992). Kandungan susu terdiri dari air 87,10%, protein 3,4%, laktosa 4,8%, lemak 3,9%, mineral 0,72%, enzim, gas dan vitamin. Kandungan protein pada susu sapi terdiri dari kasein 80% dan protein whey 20%. Kandungan gizi dalam susu jumlahnya beragam tergantung pada beberapa faktor seperti jenis ternak, waktu pemerahan, umur ternak, pakan, penyakit, kondisi fisiologis ternak dan lain sebagainya (Buckle *et al.*, 2010).



Selain merupakan bahan makanan yang bernilai gizi tinggi, susu juga mudah mengalami kerusakan karena merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Susu segar pada suhu ruang hanya mampu bertahan selama 4-6 jam pasca pemerahan tergantung pada kondisi lingkungannya sehingga perlu dilakukan penanganan untuk memperpanjang masa simpan seperti pendinginan dan pengolahan. Pendinginan bertujuan untuk mencegah kerusakan susu akibat kontaminasi silang, sedangkan pengolahan merupakan suatu proses untuk menghambat perubahan-perubahan yang menyebabkan susu tidak dapat dimanfaatkan lagi sebagai bahan pangan akibat menurunnya beberapa aspek mutunya. Perubahan tersebut diakibatkan oleh kontaminasi mikroba, proses fisik dan kimiawi yang terjadi di dalam bahan pangan itu sendiri (Suprpto, 2011). Persyaratan mutu susu segar berdasarkan SNI nomor 01-3141-2011 dapat dilihat pada Tabel 3.



Tabel 3. Syarat mutu susu segar SNI 01-3141-2011 (BSN, 2011).

No.	Karakteristik	Syarat
1.	Berat jenis (pada suhu 27,5 °C minimal)	1,0270 g/cm ³
2.	Kadar lemak	Minimum 3,0%
3.	Kadar bahan kering tanpa lemak	Minimum 7,8%
4.	Kadar protein	Minimum 2,8%
5.	Warna, bau, rasa dan kekentalan	Tidak ada perubahan
6.	Derajat asam	6 – 7,5 °SH
7.	pH	6,3 – 6,8
8.	Uji alkohol (70%)	Negatif
9.	Cemaran mikroba maksimal	
	• Total Plate Count	1 x 10 ⁶ CFU/mL
	• <i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ² CFU/mL
	• <i>Enterobacteriaceae</i>	1 x 10 ³ CFU/mL
10.	Jumlah sel somatis maksimal	4 x 10 ⁵ sel/ml
11.	Residu antibiotika (Penisilin, Tetrasiklin, Aminoglikosida, Makrolida)	Negatif
12.	Uji Pemalsuan	Negatif
13.	Titik beku	-0,520 s.d -0,560 °C
14.	Uji peroxidase	Positif
	Cemaran logam berbahaya maksimal	
	• Timbal (Pb)	0,02 µg/ml
	• Merkuri (Hg)	0,03 µg/ml
	• Arsen (As)	0,1 µg/ml

2.2.1 Fisiko-kimia

2.2.1.1 Berat Jenis

Berat jenis merupakan pengujian standar sebagai parameter awal untuk mengetahui jumlah padatan susu dan pemalsuan susu (Tesfay *et al.*, 2015) sehingga menjadi dasar penentuan harga dan diterima atau ditolaknya susu yang dihasilkan peternak oleh pengepul atau industri.

Pengukuran berat jenis susu dengan cepat menunjukkan adanya penyimpangan dari komposisi susu normal akibat penambahan air.

Penambahan 10% air ke dalam susu akan menghasilkan penurunan kepadatan sekitar 0,003 g/cm³ (Paar, 2017). Harga susu juga ditentukan



oleh lemak, *Solid Non Fat (SNF)*, *Total Solid (TS)*, *Total Plate Count (TPC)* dan kandungan residu antibiotik (Utami dkk., 2014). Berat jenis susu umumnya dalam kisaran $1,026 - 1,034 \text{ g/cm}^3$ pada suhu $15-20^\circ\text{C}$, angka tersebut dipengaruhi oleh komposisi susu (lemak $0,93 \text{ g/cm}^3$, SNF $1,6 \text{ g/cm}^3$, air $1,0 \text{ g/cm}^3$) dan kualitas susu. Komposisi susu sapi bervariasi tergantung pada periode laktasi, waktu pemerahan, pakan dan jenis ternak sedangkan kualitas susu banyak dipengaruhi oleh ada tidaknya pemalsuan susu (Asefa *et al.*, 2019; FAO, 2020). Sukmawati (2014) menjelaskan bahwa perubahan suhu juga memberikan pengaruh terhadap angka penilaian berat jenis susu, pada suhu rendah viskositas akan semakin tinggi sehingga berat jenis susu akan naik dan sebaliknya. Paparan ozon tidak melibatkan perubahan suhu sehingga dimungkinkan tidak terdapat perubahan berat jenis susu antara sebelum dan sesudah ozonisasi. Menurut Cavalcante *et al.* (2013), paparan ozon sebanyak $1,5 \text{ mg/L}$ selama 15 menit tidak mengakibatkan perubahan pada kualitas fisiko-kimia tetapi memberikan dampak yang spesifik terhadap mikroba yang terdapat di dalamnya.

2.2.1.2 Kadar Protein

Protein susu yang terpenting adalah kasein, laktalbumin, dan laktoglobulin. Kasein merupakan 80% dari total protein yang terdapat dalam susu. Kasein terdiri dari α_1 -casein 38%, α -casein 10%, β -casein 36%, dan κ -casein 13%. Kasein termasuk jenis fosfoprotein yang terdiri dari beberapa unit asam amino yang terikat oleh ikatan peptida. Laktalbumin berbentuk koloid dan mudah menggumpal oleh panas, tidak



dapat diendapkan oleh asam atau enzim protease dan tidak mengandung fosfor. Sedangkan laktoglobulin terdapat dalam susu sebanyak 0,1%. Konsentrasi laktoglobulin akan meningkat pada masa kolostrum. Seperti halnya laktalbumin, laktoglobulin juga dapat menggumpal oleh pemanasan, tetapi tidak oleh asam maupun enzim protease (Sukmawati, 2014). Pengolahan dengan pemanasan baik secara perebusan maupun penggorengan dapat menurunkan kadar protein dalam bahan pangan, suhu tinggi akan menyebabkan denaturasi protein sehingga terjadi koagulasi dan menurunkan solubilitas atau daya kemampuan larutnya. Pemanasan protein dapat menyebabkan terjadinya reaksi seperti denaturasi, kehilangan aktivitas enzim, perubahan kelarutan dan hidrasi, perubahan warna, derivatisasi residu asam amino, *cross-linking*, pemutusan ikatan peptida, dan pembentukan senyawa sensori aktif. Reaksi ini dipengaruhi oleh suhu dan lama pemanasan, pH, adanya oksidator, antioksidan, radikal bebas, dan senyawa aktif lainnya khususnya senyawa karbonil. Reaksi yang terjadi pada saat pemanasan protein tersebut dapat merusak kondisi protein, sehingga kadar protein akan turun (Winarno, 2002; Sundari, 2015).

Menurut Rusdi dan Sulliasih (2002), metode ozonisasi menggunakan paparan sinar ultraviolet 15 VA pada permukaan susu yang diaduk dan diaplikasikan pada suhu rendah memberikan pengaruh nyata terhadap kadar protein susu. Sifat ozon sebagai oksidator kuat diduga sebagai faktor yang menyebabkan peningkatan kadar protein susu. Berbeda halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh Cavalcante *et al.* (2013), metode ozonisasi menggunakan gelembung udara



sebanyak 1,5 mg/L selama 15 menit tidak berpengaruh terhadap kadar protein susu segar.

2.2.1.3 Kadar Lemak

Menurut Buckle *et al.* (2010), lemak susu terdiri atas trigliserida yang tersusun dari satu molekul gliserol dengan tiga molekul asam lemak (*fatty acid*) melalui ikatan-ikatan ester. Asam lemak dalam lemak susu sekurang-kurangnya terdapat 50 macam, 60-75% bersifat jenuh, 25-30% bersifat tak jenuh dan sekitar 4% bersifat asam lemak tak jenuh ganda. Asam lemak yang paling banyak dijumpai adalah miristat (C14), palmitat (C16), dan stearat (C18). Lemak susu mengandung asam lemak esensial, seperti asam linoleat dan linolenat yang berperan penting dalam metabolisme dan mengontrol berbagai proses biologis dan biokimia pada tubuh manusia. Lemak susu mengandung beberapa komponen bioaktif yang sanggup mencegah kanker seperti asam linoleat konjugasi (*conjugated linoleic acid*), *sphingomyelin*, *butiric acid*, *ether lipid*, β -karoten, vitamin A, dan vitamin D. Susu mengandung asam lemak jenuh (*saturated fatty acids*) dan *trans fatty acids* yang dihubungkan dengan *atherosclerosis* dan penyakit jantung, namun susu juga mengandung asam oleat yang memiliki korelasi negatif dengan penyakit tersebut (Sukmawati, 2014).

Menurut Winarno, (2002), proses pengolahan dengan pemanasan akan menimbulkan kerusakan terhadap lemak yang terkandung di dalam bahan pangan. Tingkat kerusakan lemak berbanding lurus dengan suhu dan waktu yang digunakan. Terjadinya penurunan kadar lemak



disebabkan karena sifat lemak yang tidak tahan terhadap panas. Selama perebusan lemak mencair bahkan menguap (*volatile*) menjadi komponen lain seperti flavor, sedangkan proses penggorengan mengakibatkan kenaikan kadar lemak yang berasal dari minyak goreng yang terserap oleh bahan pangan tersebut (Sundari, 2014). Dalam pengolahan susu, pasteurisasi memiliki efek positif dalam mengurangi cemaran mikroba dalam susu, tetapi mengakibatkan kerusakan pada vitamin dan kalsium, perubahan nutrisi pada protein *whey* dan perubahan sifat sensoris susu seperti warna, rasa dan bau (Muntikah dan Razak, 2017). Sedangkan menurut Hamodah *et al.*, 2019, perlakuan ozonisasi mampu menurunkan cemaran mikroba dalam susu tanpa mengakibatkan oksidasi lipid dan perubahan pH susu yang signifikan. Teknologi ozonisasi tidak meninggalkan residu kimiawi pada produk makanan yang terpapar karena secara otomatis berpindah menjadi produk *non toxic*, ramah lingkungan dan mampu menekan biaya produksi.

2.2.2 Aktivitas Mikroba

2.2.2.1 *Electrical Conductivity*

Infeksi *intramammary* merupakan penyakit yang sering ditemui dalam industri persusuan dan menyebabkan kerugian ekonomi yang besar apabila tidak segera ditangani dengan benar (Bobos *et al.*, 2013). Mastitis adalah respons ambing terhadap faktor internal dan eksternal yang berbeda yang secara substansial mempengaruhi kualitas susu dan produksi sapi perah. Bakteri patogen menyebabkan iritasi dan perubahan patologis pada jaringan ambing. Derajat perubahan tergantung pada



patogenisitas bakteri dan respon inflamasi (Sharif and Muhammad, 2008).

Mastitis klinis mudah dideteksi dengan tanda-tanda klinis seperti ambing bengkak dan memerah, tampilan susu encer, munculnya serpihan atau gumpalan atau nanah pada susu, akan tetapi mastitis sub klinis sulit didiagnosis. Patogen mastitis yang sering ditemukan dalam susu adalah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* dan *Escherichia coli* (Galfi et al., 2015).

Infeksi *intramammary* dapat mengubah komposisi susu, meningkatkan *somatic cell count* (SCC) dan *electrical conductivity* (EC) susu (Shahid et al., 2011). SCC susu yang sehat kurang dari 200.000 sel/mL. Bagian ambing yang sehat hanya mengandung 1-11% neutrofil, tetapi selama peradangan, proporsi neutrofil meningkat lebih dari 90% (Sharif dan Muhammad, 2008). Selain infeksi *intramammary*, stadium laktasi, umur sapi, penyakit kronis, iritasi mekanis dan termal pada jaringan ambing mempengaruhi SCC. Sedangkan EC telah lama digunakan untuk mendeteksi mastitis karena berkorelasi positif terhadap SCC. EC ditentukan oleh konsentrasi anion dan kation dalam susu. Kerusakan jaringan ambing mengakibatkan konsentrasi laktosa dan kalium menurun, sedangkan konsentrasi natrium dan klorida meningkat sehingga berpengaruh terhadap peningkatan EC dan penurunan *electrical resistance* (ER) dalam susu. EC dapat memberikan informasi yang berguna tentang status kesehatan ambing, tetapi tidak dapat digunakan sendiri dalam diagnosis mastitis sub klinis dan harus didukung dengan analisis mikrobiologis atau *somatic cell count* (SCC). EC sampel susu dideteksi dengan *Hand-held EC meter* (*Draminski Mastitis Detector*,



Poland). Pembacaan pada alat tersebut mengacu pada *ER* sampel sehingga berbanding terbalik dengan kondisi *EC* sesungguhnya. Semakin tinggi angka yang tertera pada bacaan alat menunjukkan semakin tinggi nilai *ER* dan semakin rendah nilai *EC* sampel yang berarti kualitas susu semakin baik (Galfi *et al.*, 2015). Menurut Ogata and Nagahata (2000), penggunaan ozon yang diinfuskan ke dalam kelenjar susu dapat digunakan sebagai terapi pengobatan mastitis klinis pada sapi perah. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada *electrical conductivity* (*EC*) dan *somatic cell count* (*SCC*) antara perlakuan ozonisasi dan perlakuan antibiotik selama 1-21 hari observasi. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas terapi ozon setara dengan terapi antibiotik dalam pengobatan penyakit mastitis klinis. *SCC* memiliki kecenderungan menurun seiring waktu observasi yang berkaitan erat dengan pemulihan kelenjar susu. Sebanyak 60% dari ternak yang digunakan untuk penelitian dapat sembuh dari penyakit mastitis klinis tanpa menggunakan antibiotik. Ozon terbukti efektif, aman, dan murah, serta tidak meninggalkan residu antibiotik dalam susu. Keuntungan lainnya yaitu susu yang dihasilkan tidak harus dibuang karena tidak ada residu ozon pada pemerahan berikutnya.

2.2.2.2 Total Plate Count

Menurut Buckle *et al.* (2010), susu merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba, oleh karenanya apabila tidak ditangani dengan baik dapat menimbulkan penyakit yang berbahaya baik bagi ternak maupun manusia. Pemanasan adalah metode konvensional yang



lazim diterapkan untuk mengurangi cemaran mikroba dalam susu. Proses pemanasan sangat sederhana dan efektif, tetapi mengakibatkan kerusakan nutrisi dan mutu sensoris terutama ketika pemanasan dilakukan pada susu berkualitas rendah yang mengandung cemaran mikroba yang tinggi (Pedras *et al.*, 2012). Alternatif untuk mengurangi cemaran mikroba pada susu adalah dengan menggunakan zat atau senyawa yang mampu menginaktivasi mikroba tanpa mempengaruhi keamanan dan kualitas susu, salah satunya adalah teknologi ozonisasi (Cavalcante *et al.*, 2013). Ozon merupakan senyawa oksidatif yang tinggi dan memiliki spektrum antimikroba yang luas, mampu menginaktivasi sel vegetatif dan bersporulasi pada ragi, kapang dan virus, serta mendegradasi mikotoksin (Tiware *et al.*, 2010). Ozon menghancurkan mikroba dengan oksidasi progresif pada komponen sel yang vital. Dinding sel merupakan target pertama ozonisasi, dengan oksidasi asam lemak tak jenuh ganda sehingga mengakibatkan hilangnya permeabilitas dan gangguan sel. Selain itu ozon menyebabkan oksidasi gugus sulfhidril dan asam amino dari enzim, peptida dan protein, termasuk asam nukleat dan enzim vital. Dalam spora, ozon mendegradasi lapisan mantel sehingga mengekspos korteks dan inti keluar (Khadre *et al.*, 2001; Guzel Seydim *et al.*, 2004; Tiware *et al.*, 2010).

Menurut Lenntech (2018), ozon merupakan disinfektan yang paling efisien dalam pengolahan air minum karena dapat menginaktivasi mikroba yang sulit diinaktivasi oleh disinfektan kimia. Penelitian yang dilakukan oleh Agustini dan Rienoviar (2011) tentang konsentrasi ozon yang optimum pada proses disinfeksi air minum dalam kemasan

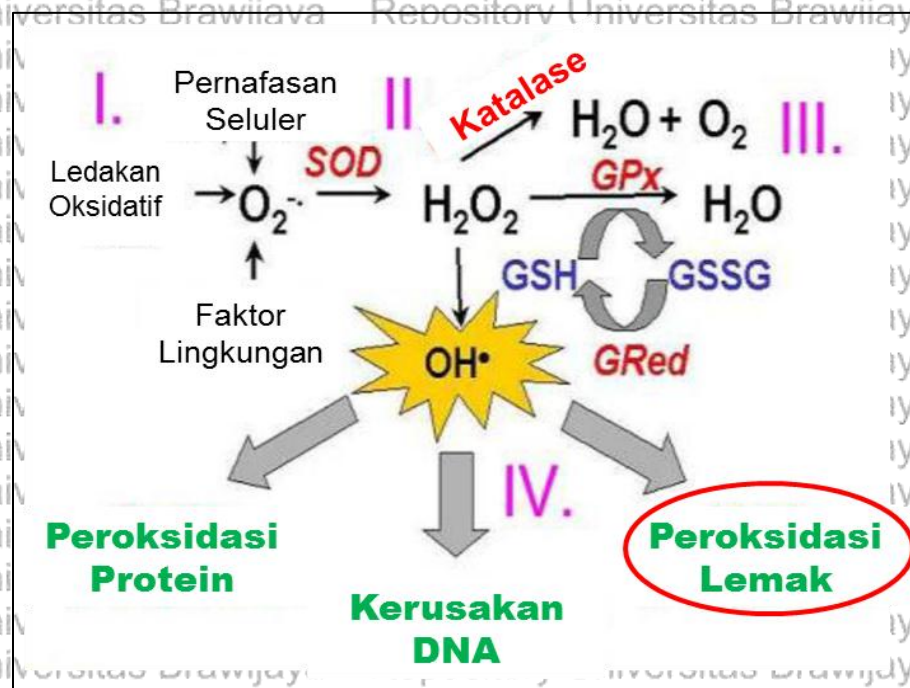


menunjukkan bahwa air minum dalam kemasan hasil perlakuan dengan kadar ozon kurang dari 0,3 ppm masih mengandung TPC lebih dari 100 CFU/mL, sedangkan air minum dalam kemasan hasil perlakuan dengan kadar ozon 0,3 ppm atau lebih telah memenuhi persyaratan TPC menurut SNI 01-3553-2006 yaitu kurang dari 100 CFU/mL. Penggunaan ozon dengan gelembung udara dapat dimanfaatkan sebagai alternatif untuk mengurangi cemaran mikroba dalam susu mentah, mempertahankan kandungan nutrisi yang ada di dalamnya dan meningkatkan daya simpan susu sebelum diproses secara termal (Cavalcante *et al.*, 2013).

2.2.2.3 Malondialdehyde

Menurut Mahdi (2016), *Reactive oxygen species* (ROS) adalah suatu molekul yang mempunyai satu elektron tidak berpasangan, merupakan senyawa kimia yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan kerusakan membran sel. ROS terbentuk pada saat tubuh memproduksi energi, proses respirasi, detoksifikasi, kontaminasi lingkungan, radiasi sinar ultraviolet, gangguan aliran darah dan konsumsi makanan yang banyak mengandung lemak. ROS adalah bagian dari radikal bebas yang merupakan produk metabolisme sel normal, termasuk di dalamnya radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$), superoksida anion (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan nitrogen oksida (NO), yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan oksidasi spesifik terhadap beberapa jenis enzim (Kunwar dan Priyadarsini, 2011). Apabila produksi ROS tidak seimbang dengan antioksidan yang terdapat dalam sel, maka kondisi tersebut akan mendorong terjadinya stres oksidatif. Keadaan ini merangsang

terbentuknya senyawa radikal bebas yang lebih reaktif dan toksik sehingga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel (Halliwell, 2001). Produksi ROS juga terjadi dalam proses ozonisasi. Senyawa ozon akan terdekomposisi menjadi radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$) yang mengakibatkan peroksidasi lipid dan merusak dinding sel (Tiwari *et al.*, 2010). Mekanisme terbentuknya ROS dan radikal bebas selengkapnya disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Mekanisme terbentuknya ROS dan radikal bebas (Mahdi, 2016).

Peroksidasi lemak terbagi dalam tiga tahap yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi interaksi antara radikal bebas dengan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) dan membran *fosfolipid*. Proses ini dapat berlangsung karena produksi radikal superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}$). Reaksi dapat berhenti (terminasi) apabila menghasilkan produk non



radikal hasil kombinasi dua senyawa radikal bebas (Mahdi, 2016). Hasil akhir dari peroksidasi lipid adalah terputusnya rantai karbon asam yang menghasilkan senyawa bersifat toksik berupa senyawa dialdehid yang lebih dikenal sebagai *malondialdehyde (MDA)*. Senyawa ini dapat diukur menggunakan tes standar *thiobarbituric acid (TBA)*. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan tingginya konsentrasi radikal bebas yang mengakibatkan peroksidasi lipid dan berkorelasi terhadap tingkat kerusakan membran sel (Ayala *et al.*, 2014).

2.2.3 Antibiotik

2.2.3.1 Penggolongan Antibiotik

Antibiotik adalah segolongan molekul baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia pada organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri. Penggunaan antibiotik khususnya berkaitan dengan pengobatan penyakit infeksi, meskipun dalam bioteknologi dan rekayasa genetika juga digunakan sebagai alat seleksi terhadap mutan atau transforman. Antibiotik bekerja seperti pestisida dengan menekan atau memutus satu mata rantai metabolisme, hanya saja targetnya adalah molekul bakteri. Berdasarkan spektrum kerjanya, Kasper *et al.*, (2005) menjelaskan bahwa antibiotik terbagi menjadi dua yaitu : (1) Antibiotik spektrum luas (*broad-spectrum*), bekerja terhadap lebih banyak bakteri, baik gram negatif maupun gram positif serta jamur, sebagai contoh adalah tetrasiklin dan kloramfenikol. (2) Antibiotik spektrum sempit (*narrow spectrum*), bekerja terhadap beberapa jenis bakteri saja. Contohnya adalah penisilin yang



hanya bekerja terhadap bakteri gram positif dan gentamisin yang hanya bekerja terhadap bakteri gram negatif. Antibiotik diklasifikasikan berdasarkan mekanisme aksinya menjadi enam golongan besar, yaitu: (1) penghambat sintesis dinding sel, meliputi: penisilins, cephalosporins, vancomycin, penghambat beta-lactamase, carbapenems, aztreonam, polymyxin dan bacitracin; (2) penghambat sintesis protein, meliputi: aminoglycosides (gentamicin), tetracyclines, macrolides, chloramphenicol, clindamycin, linezolid dan streptogramins; (3) penghambat sintesis DNA, seperti: fluoroquinolones dan metronidazole; (4) penghambat sintesis RNA: rifampisin; (5) penghambat sintesis asam mikolat: isoniazid; (6) penghambat sintesis asam folat: sulfonamides dan trimethoprim (Walsh, 2000; Dzidic *et al.*, 2008). Berdasarkan mekanisme aksinya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Penggolongan antibiotik berdasarkan mekanisme aksi (Moore, 2018).

Penghambat Sintesis Dinding Sel	
Penisilin	
Bersifat bakterisidal dengan memblok <i>cross linking</i> via penghambatan kompetitif enzim transpeptidase	
Kategori Berdasarkan Mekanisme Aksi	Nama Antibiotik
Penisilin	Penisilin G, Aqueous penisilin G, Procaine penisilin G, Benzathine penisilin G dan Penisilin V
Aminopenisilins	Amoicillin dan Amoxicillin
Penisilinase-resistant-penisilins	Methicillin, Nafcillin, Oxacillin, Cloxacillin dan Dicloxacillin
Antipseudomonal penisilins	Carbenicillin, Ticarcillin dan Piperacillin

(Berlanjut ke halaman 32)



(Lanjutan dari halaman 31)

Cephalosporin

Bersifat bakterisidal dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri via penghambatan kompetitif enzim transpeptidase

Kategori Berdasarkan

Mekanisme Aksi

Nama Antibiotik

Generasi pertama

Cefazolin dan Cefahalexin

Generasi kedua

Cefoxitin, Cefaclor dan Cefuroxime

Generasi ketiga

Ceftriaxone, Cefotaxime dan

Ceftazidime

Generasi keempat

Cefepime

Penghambat Dinding Sel Lainnya

Kategori Berdasarkan

Mekanisme Aksi

Nama Antibiotik

Vancomycin

Vancomycin

(Bersifat bakterisidal bekerja menghambat peptidoglycan *cross linkage*)

Penghambat beta laktamase (Bersifat bakterisidal, bekerja menghambat *cross-linking*)

Clavulanic acid, Sulbactam dan Tazobactam

Carbapenem

Imipenem, Meropenem, Doripenem dan Ertapenem

Aztreonam

Aztreonam

Polymyxin

Polymyxin B dan Polymyxin E

Bacitracin

Bacitracin

Penghambat Sintesis Protein**Mentarget Ribosome Subunit 30S**

Kategori Berdasarkan

Mekanisme Aksi

Nama Antibiotik

Aminoglycosides

Gentamicin, Neomycin, Amikacin,

(Bersifat bakterisidal)

Tobramycin, dan Streptomycin

Tetracyclines

Tetracycline, Doxycycline,

(Bersifat bakteriostatik)

Minocycline dan Demeclocycline

Mentarget Ribosome Subunit 50S

Kategori Berdasarkan

Mekanisme Aksi

Nama Antibiotik

Macrolide

Erythromycin, Azithromycin, dan

(Bersifat bakteriostatik)

Clarithromycin

Chloramphenicol

Chloramphenicol

(Bersifat bakteriostatik)

(Berlanjut ke halaman 33)



(Lanjutan dari halaman 32)

Lincosamide
(Bersifat bakteristatik)

Linezolid

Streptogramin

Clindamycin

Linezolid

Quinupristin dan Dalfopristin

Penghambat Sintesis DNA

Fluoroquinolone

Bersifat bakterisidal dengan menghambat enzim DNA gyrase

Kategori Berdasarkan
Mekanisme Aksi

Nama Antibiotik

Generasi pertama
Generasi kedua

Nalidixic acid

Ciprofloxacin, Norfloxacin, Enoxacin,
Ofloxacin dan Levofloxacin

Generasi ketiga

Gatifloxacin

Generasi keempat

Moxifloxacin dan Gemifloxacin

Penghambat DNA lainnya

Kategori Berdasarkan
Mekanisme Aksi

Nama Antibiotik

Metronidazole

Metronidazole

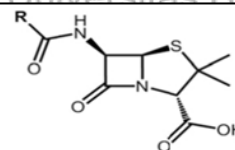
2.2.3.2 Antibiotik Penisilin

Penisilin merupakan kelompok antibiotik yang ditandai oleh adanya cincin β -laktam dan diproduksi oleh berbagai jenis jamur (eukariot) yaitu dari jenis *Penicillium*, *Aspergillus*, serta oleh beberapa prokariot tertentu (Madigan *et al.*, 2000). Sifat unik pada masing-masing penisilin ditentukan oleh adanya rantai samping yang berbeda-beda. Adapun struktur kimia antibiotik penisilin dengan berbagai grup R menurut Canzani dan Aldeek (2017), selengkapnya disajikan pada

Gambar 6:



Jenis Penisilin



Penisilin G	Penisilin V	Phenethisilin	Propasilin
Ampisilin	Amoksisilin	Karbenisilin	Methisilin
Oksasilin	Kloksasilin	Dikloksasilin	Flukloksasilin
Sulbenasilin	Penisilin O	Nafsinin	Oksasilin

Gambar 6. Struktur kimia antibiotik penisilin dengan berbagai grup R (Canzani and Aldeek, 2017).

Penisilin bekerja pada sebagian besar bakteri gram positif, dan hanya bekerja pada beberapa gram negatif. Perbedaan utama antara kedua jenis bakteri ini adalah adanya membran luar di spesies gram negatif dan dinding sel peptidoglikan yang lebih tebal pada spesies gram positif. Peptidoglikan merupakan polimer yang dibuat dari monomer yang terdiri dari N-acetylglucosamine bergabung dan asam N-asetilmuramat, dengan asam amino pentapeptid yang terikat pada asam N-asetilmuramat. Dinding sel terbentuk ketika monomer peptidoglikan dipolimerisasi menjadi untaian panjang ikatan glikosidik. Untaian tersebut kemudian dihubungkan silang melalui rantai asam amino pentapeptida (Vollmer *et al.*, 2008). Sintesis peptidoglikan dikatalisis oleh protein pengikat penisilin yang memiliki ciri glikosil transferase dan aktivitas transeptidase untuk polimerisasi dan ikatan silang peptidoglikan



sehingga saling terkait membentuk struktur sel, dan membentuk pertahanan sel prokariotik (Typas *et al.*, 2012).

2.2.3.3 Bahaya Residu Antibiotik Pada Susu

Penggunaan antibiotik pada peternakan sapi perah tidak dapat dihindarkan karena diperlukan untuk mengobati penyakit seperti mastitis, enteritis, dermatitis dan penyakit lainnya. Selain untuk pengobatan, antibiotik digunakan sebagai pemacu pertumbuhan dan produksi. Adapun golongan antibiotik yang sering digunakan dalam pengobatan sapi perah yaitu penisilin, tetrasiklin dan streptomycin (Harlia dkk., 2014).

Penggunaan antibiotik yang terus menerus dan tidak memperhatikan waktu henti pemberian antibiotik (*withdrawal time*) akan menimbulkan residu antibiotik dalam susu yang dapat menimbulkan reaksi alergi (residu penisilin), reaksi keracunan (residu streptomycin), gagalnya pengobatan akibat resistensi, mempengaruhi flora normal pada saluran pencernaan, gangguan jumlah mikroflora saluran pencernaan (Murdiati, 1997).

Lamanya keberadaan antibiotik berada dalam susu tergantung dari dosis, metode pemberian dan jenis antibiotik yang digunakan. Menurut Nurhayati dan Martindah (2015), residu antibiotik dalam susu dapat diakibatkan karena tidak diperhatikannya *withdrawal time* antibiotik yang digunakan. Secara umum *withdrawal time* antibiotik spektrum sempit minimal 5 hari pasca pengobatan, sedangkan untuk jenis antibiotik spektrum luas yang dapat membentuk depo memiliki *withdrawal time* selama 13 hari (Meutia dkk., 2016). *Withdrawal time* adalah waktu yang dibutuhkan oleh residu dari suatu zat yang bersifat racun seperti antibiotik



telah mencapai konsentrasi yang aman (layak dikonsumsi). Oleh karenanya, pemerintah melakukan pengawasan untuk mencegah keberadaan residu antibiotik dalam susu dengan menetapkan batas maksimum residu antibiotik dalam susu dalam SNI-01-6366-2000 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Batas Maksimum Residu dalam Bahan Makanan Asal Hewan (Tabel 3).

Tabel 3. Batas maksimum residu antibiotik dalam susu SNI 01-6366-2000 (BSN, 2000).

No.	Jenis antibiotik	Batas maksimum residu (mg/kg)
1.	Penisilin	0,10
2.	Tertrasiklin	0,05
3.	Oksitetrasiklin	0,05
4.	Klortetrasiklin	0,05
5.	Streptomisin	0,10
6.	Eritromisin	0,10

Ancaman potensial residu antibiotik dalam susu terhadap kesehatan meliputi aspek toksikologi, mikrobiologi dan imunopatologi. Ditinjau dari aspek toksikologi, residu antibiotik bersifat toksik terhadap hati, ginjal dan pusat hemopoitika (pembentukan darah). Pada aspek mikrobiologi, residu antibiotik dapat mengganggu mikroflora dalam saluran pencernaan dan menyebabkan terjadinya resistensi mikroba yang dapat menimbulkan masalah kesehatan manusia dan hewan. Sedangkan dari aspek imunopatologi dapat menimbulkan reaksi alergi ringan dan lokal, hingga menyebabkan shock yang berakibat fatal. Dampak negatif keberadaan residu antibiotik dalam bahan pangan dari aspek teknologi pengolahan dapat menghambat atau menggagalkan proses fermentasi yang pengolahannya menggunakan mikroba (Lukman, 2010).



2.2.3.4 Degradasi Residu Antibiotik

Residu antibiotik dalam susu merupakan senyawa kimia dengan stabilitas aktivitas tertentu, tingkat kestabilannya dapat pula berubah pada kondisi tertentu. Beberapa golongan residu antibiotik akan berkurang aktivitasnya apabila mengalami hidrolisis. Menurut Kim *et al.* (2013), efisiensi oksidasi setiap senyawa antibiotik sangat tergantung pada kekuatan oksidatornya. Berkas elektron pada limbah cair efektif untuk menghilangkan sulfamethoxazole dan klorotetrasiklin, sedangkan ozon dan ultraviolet menunjukkan tren yang berbeda. Ozon dalam kondisi normal akan terdekomposisi menghasilkan radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) yang merupakan oksidator kuat dan bereaksi dengan senyawa organik dan anorganik yang beragam pada air (Peratitus, 2003). Oksidasi H_2O_2 memiliki efisiensi tinggi (lebih dari 97%, selama 120 menit) terhadap degradasi tetrasiklin dalam larutan alkali (Chen *et al.*, 2017).

Aktivitas antibiotik juga akan berkurang akibat perlakuan asam, pemanasan dan secara enzimatik (Lowy, 1986). Menurut Zorraquino *et al.* (2008), perlakuan pemanasan pada 83 °C selama 10 menit menyebabkan penurunan aktivitas penisilin sebesar 20%, cephalexin 27%, dan cefuroxime 35%. Perlakuan pemanasan pada industri pengolahan susu yaitu pasteurisasi pada 60 °C selama 30 menit dan UHT 140 °C selama 10 detik hanya menyebabkan sedikit penurunan pada aktivitas antimikroba, sedangkan sterilisasi pada 120 °C selama 20 menit menyebabkan inaktivasi lebih dari 65% pada penisilin dan 90% pada cephalosporin. Sedangkan pada penelitian Hsieh *et al.* (2011) tentang pengaruh dari perlakuan panas di atas termostabilitas tetrasiklin,



menggunakan dua suhu pemanasan yang berbeda (100°C dan 121°C) dengan waktu yang sama (15 menit) menunjukkan bahwa pemanasan pada 100°C menyebabkan degradasi tetrasiklin sebesar 54,4% sedangkan pemanasan pada 121°C menyebabkan degradasi tetrasiklin hingga 99%.



BAB III

KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Susu merupakan bahan pangan strategis dalam mendukung terciptanya sumber daya manusia yang berkualitas, komposisi gizi yang lengkap menjadikan susu dan hasil olahannya digolongkan sebagai salah satu komoditi pokok yang harus dipenuhi oleh semua negara di dunia. Di Indonesia, sebagian besar susu dihasilkan oleh peternakan rakyat yang tersentralisasi di pulau Jawa. Susu yang memenuhi syarat mutu akan diterima oleh Industri Pengolahan Susu (IPS), sedangkan susu yang tidak memenuhi syarat mutu akan ditolak dan menjadi beban kerugian bagi peternak.

Produksi susu nasional saat ini hanya mampu memenuhi 20,92% dari total kebutuhan susu nasional yaitu sebesar 4,45 juta ton per tahun. Sedangkan kehilangan hasil susu mencapai 10% dari total produksi susu yang sebagian besar disebabkan oleh adanya pemalsuan, berulangnya kejadian mastitis dalam periode laktasi, tingginya cemaran mikroba dan adanya residu antibiotik (Setyawati dan Suprpto, 2017). Jika kondisi ini terus berlanjut, Indonesia berpotensi terkena "food trap" dari negara maju yang pada akhirnya akan berdampak pada stabilitas ekonomi dan kesejahteraan rakyat, usaha peternakan sapi perah dalam negeri akan ditinggalkan karena sudah tidak menarik bagi investor, serta peternak kecil akan semakin dirugikan karena harga susu sangat dipengaruhi oleh harga susu impor dan adanya penolakan dari IPS dengan dalih bahwa kualitas susu yang dihasilkan peternak masih belum memenuhi standar. Oleh karena itu, dalam rangka mandiri pangan diperlukan langkah strategis untuk



memenuhi konsumsi susu dalam negeri maka produksi harus ditingkatkan dan kehilangan hasil harus diminimalkan dengan menerapkan prinsip-prinsip *Good Dairy Practices (GDP)* dan *Good Handling Practices (GHP)*.

Menambah populasi sapi perah untuk meningkatkan produksi susu adalah program jangka panjang yang perlu mendapatkan perhatian serius oleh semua pihak, akan tetapi langkah tersebut bukanlah hal yang mudah. Selain membutuhkan waktu yang cukup lama, ketergantungan pada negara maju penyedia bibit ternak perah juga sangat tinggi. Di saat pandemi seperti sekarang ini, semua negara di dunia akan berlomba-lomba menyelamatkan asetnya yang berhubungan langsung dengan kebutuhan dalam negeri masing-masing sehingga impor bibit sapi perah berkualitas sangat sulit dilakukan saat ini.

Program jangka pendek yang paling mungkin dilakukan adalah menekan kehilangan hasil produksi susu dalam negeri guna menekan angka ketergantungan terhadap negara importir susu.

Dalam industri ternak perah modern, teknologi ozonisasi telah diperkenalkan untuk tujuan sterilisasi karena memiliki kemampuan dalam menginaktivasi mikroba (Varga and Szigeti, 2016), namun belum banyak informasi tentang pemanfaatan ozon untuk menekan angka cemaran mikroba dan inaktivasi residu antibiotik yang terdapat dalam susu. Ozon (O_3) dikenal sebagai molekul triatomik yang terdiri atas tiga atom oksigen, berupa gas yang tidak stabil dan diproduksi saat molekul oksigen berdisosiasi menjadi atom oksigen. Dalam industri pangan, ozon memiliki dua fungsi utama yaitu sebagai oksidator kuat dan disinfektan atau gabungan kedua fungsi tersebut (Dalmazio *et al.*, 2007; Asgar, 2014). Ozon mempunyai potensial oksidasi yang tinggi, sehingga dapat dimanfaatkan untuk membunuh bakteri (sterilisasi),



menghilangkan warna (dekolorisasi), menghilangkan bau (deodorasi), dan menguraikan senyawa organik (degradasi) tanpa meninggalkan residu kimia dan mengubah kandungan nutrisi pada produk. Mekanisme aktivitas antimikroba ozon diawali dengan kontak ozon dengan permukaan sel mikroba dan mengoksidasi gugus sulfidril dari enzim. Dinding sel merupakan subyek pertama yang akan berinteraksi dengan molekul ozon, mengakibatkan perubahan permeabilitas sel mikroba dan menyebabkan lisis (Lenntech, 2018). Mastitis fase klinis pada sapi perah dapat disembuhkan dengan paparan ozon, hal ini dimungkinkan karena paparan ozon dapat menginaktivasi mikroba penyebab mastitis (Ogata and Nagahata, 2000; Enginler *et al.*, 2015). Efisiensi inaktivasi mikroba dipengaruhi oleh waktu kontak dengan ozon dan pH lingkungan (Quyen *et al.*, 2016).

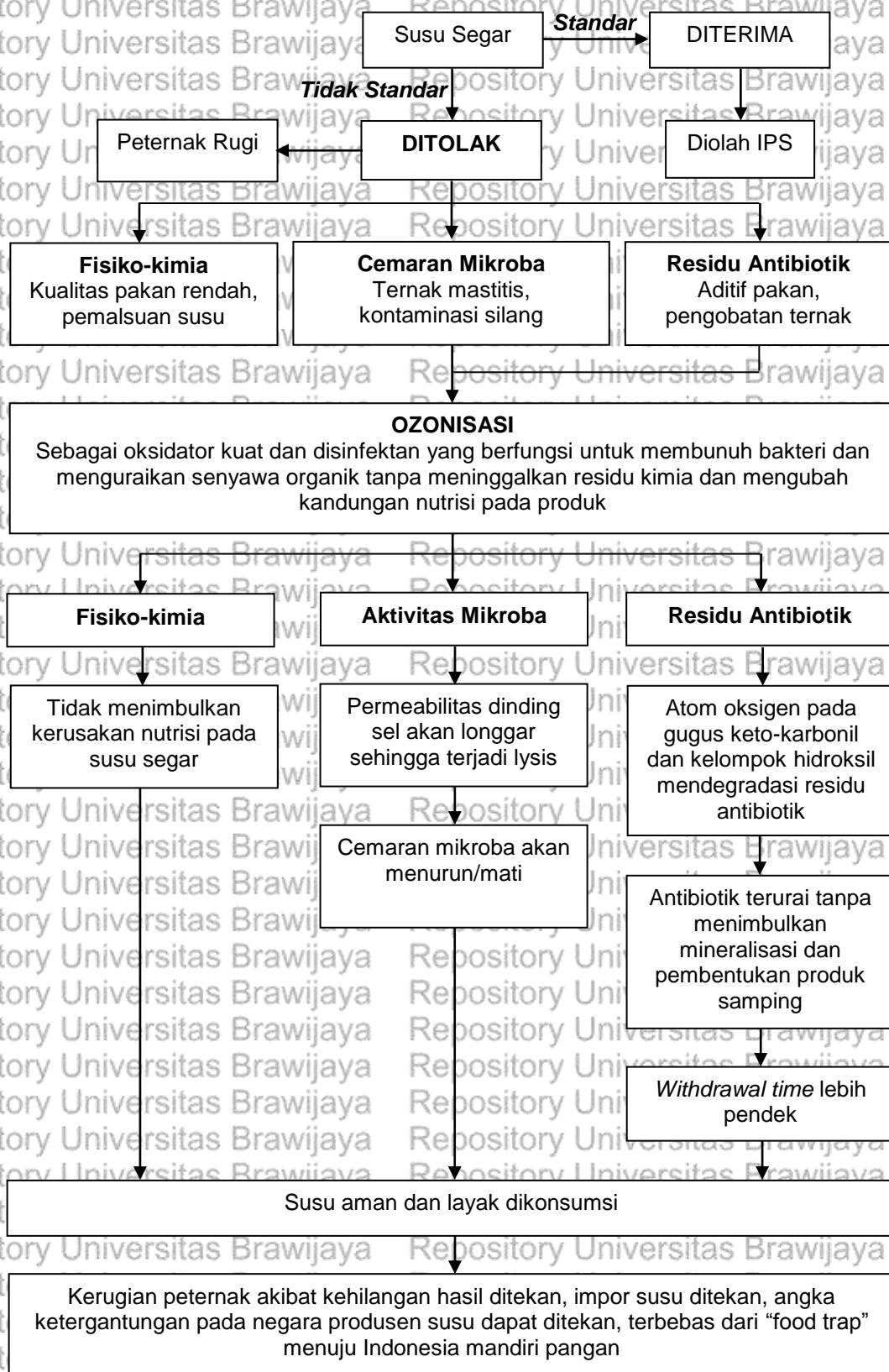
Penelitian ini terfokus pada evaluasi pemanfaatan teknologi ozonisasi sebagai alternatif dalam menekan kehilangan hasil pada produksi susu segar. Teknologi ozonisasi diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif dalam penanganan susu segar tanpa mengakibatkan perubahan kualitas fisiko-kimia, mampu menurunkan angka cemaran mikroba dan mampu mendegradasi residu antibiotik Penisilin pada susu segar hingga mencapai batas aman dan layak untuk dikonsumsi manusia. Apabila hal tersebut dapat dilakukan, maka pendapatan dan kesejahteraan peternak akan meningkat seiring dengan menurunnya kerugian akibat kehilangan hasil produksi susu, berkurangnya angka impor dan ketergantungan pada negara produsen susu yang berkorelasi terhadap peningkatan ketahanan pangan nasional, terdesentralisasinya penyebaran ternak perah di Indonesia yang pada akhirnya dapat meningkatkan produksi susu nasional, serta terbebasnya bangsa Indonesia dari “food trap”



bangsa asing sehingga tercipta stabilitas ekonomi yang berkelanjutan. Adapun kerangka berfikir penelitian selengkapnya disajikan pada Gambar 7.

3.2 Hipotesis

1. Paparan ozon tidak memberikan pengaruh terhadap perubahan kualitas fisiko-kimia susu segar.
2. Paparan ozon yang tepat akan menurunkan aktivitas mikroba dan residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar.
3. Paparan ozon mampu memperpedek *withdrawal time* residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar.



Gambar 7. Kerangka konsep penelitian



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2019 – Juni 2020 bertempat di:

1. Divisi Ternak Perah Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu, untuk pelaksanaan pra penelitian dan penyiapan sampel,
2. Laboratorium Processing Susu Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu, untuk pelaksanaan pra penelitian dan pengujian sampel berupa uji berat jenis, kadar lemak, kadar protein dan *electrical conductivity*,
3. Laboratorium Balai Besar Veteriner Wates Jogjakarta, untuk pelaksanaan pengujian cemaran mikroba berupa *total plate count*,
4. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, untuk pengujian produksi *malondialdehyde*,
5. Laboratorium Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan Bogor, untuk pengujian residu antibiotik penisilin secara kualitatif dan kuantitatif.

4.2 Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah susu segar dan sapi perah yang berasal dari Balai Besar Pelatihan Peternakan Batu. Susu segar diperoleh dari 24 ekor sapi perah yang telah memasuki periode ketiga laktasi. Sebanyak 12 ekor sapi perah adalah ternak sehat, dan 12 ekor lainnya terindikasi mastitis sub klinis dan mendapatkan terapi pengobatan menggunakan antibiotik *Biomycin-M*, *Interchime Holland* yang dibeli di salah satu *petshop* yang ada di Kota Batu. Tiap mL obat ini mengandung *Amoxycillin trihydrate* 100 mg dan *Neomycin sulphate* 50 mg;



5.2.1. Alat

Alat yang digunakan antara lain *milk can*, kain saring, panci susun *stainless steel*, pengaduk kayu, termometer, saringan *stainless steel*, timbangan meja digital, waskom plastik, spatula, kompor LPG, *Hand Held EC Meter*, *Draminski Mastitis Detector*, *Lactoscan MCC*, *Agilent 1100 HPLC UV/VIS*, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, tabung durham, batang bengkok, jarum ose, pipet ukur, pipet tetes, gelas beaker, tip kuning, tip biru, inkubator, vortex, autoklaf, *cabinet laminar air flow*, bunsen, tabung pengenceran, pipet volumetrik 2 mL dan 18 mL, *tube mixer*, *bulp*, rak tabung, cawan petri, pipet serologi 2 mL dan 10 mL, silinder cup/ kertas cakram, jangka sorong, penangas air, pinset, *homogenizer*, tabung *homogenizer*, timbangan analitik, *spinbar*, *magnetic stirrer*, pH meter, *refrigerator*, *evaporator*, *sentrifuge*, *vortex mixer*, *filter holder*, *spektrofotometer*, *ultrasonic bath*, *micropipet* (50-200 μ L dan 100-1000 μ L), *vacuum pump*, corong, labu ukur (10 mL, 100 mL, 200 mL), gelas ukur (10 mL, 25 mL, 100 mL, 500 mL, 1.000 mL), gelas vial, *cool box*, *ice pack* dan telepon genggam dengan kamera.

Ozon pada penelitian ini diproduksi oleh generator ozon komersial merk HANACO dengan kapasitas produksi ozon mencapai 400 mg/jam tergantung suhu dan sumber oksigen yang digunakan. Pada kondisi suhu ruang 24-27 °C dengan memanfaatkan oksigen yang tersedia di alam, dosis ozon yang dihasilkan alat ini selama satu menit yaitu sebesar 0,702 mg/L (Sari dan Hadi, 2014). Dosis ozon yang dihasilkan sebesar 10,53% dari dosis maksimum yang tertera dalam kemasan. Mekanisme kerja generator ozon ini adalah memecah beberapa atom oksigen normal yang



masuk ke dalam reaktor menjadi atom tunggal yang tidak stabil dan menempel pada molekul oksigen lainnya menjadi ozon dengan bantuan kejut listrik bertegangan tinggi. Ozon, yang dihasilkan dialirkan melalui pipa yang dilengkapi dengan filter untuk menghasilkan gelembung udara sehingga transfer massa ozon dapat merata pada seluruh bagian susu.

Rangkaian generator ozon selengkapnya disajikan pada Gambar 8 berikut ini:



Gambar 8. Rangkaian generator ozon

4.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain susu sapi segar dengan kualitas baik, susu sapi segar dari sapi yang mendapat perlakuan antibiotik penisilin, obat mastitis merk *Biomycin-M*, *Plate Count Agar* (OXOID CM0325B), *NaCl* 0,85%, *Lactose Broth* (OXOID CM0137B), *Eosyn Methylene Blue Agar* (OXOID CM0069B), bacto peptone, beef



extract, yeast extract, D(+) glucosa, bacto agar, tryptone peptone, dextrose, natrium hidroksida, natrium klorida, hidrogen klorida, kalium dihidrogen fosfat, larutan baku PC untuk Penisilin, larutan enzim *Penisilinas*, media agar *Geobacillus stearothermophilus*, spora *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, bahan standar pembanding penisilin G, asetonitrile, metanol, acetonitrile LC-grade, KH_2PO_4 , ammonium asetat, aquades, aquabides, TCA 10%, HCL 1 N, Na-*Thiobarbituric* 10 %, mini kolom (cartridge) C-18 (SPE), filter (0.45 μm , 13 mm), kolom KCKT fase terbalik C-18, filter *polytetrafluoroethylene* (PTFE) 0,45 μm , 47 mm, aquades, aluminium foil, kapas, *tissue*, kemasan plastik, kertas label dan alat tulis.

4.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan metode percobaan laboratorium dan dilaksanakan dalam dua tahap. Percobaan tahap pertama, terdapat dua penelitian yang dilakukan secara paralel (I^A dan I^B) dan dilanjutkan dengan penelitian II dengan perincian sebagai berikut:

1. Penelitian I^A , berjudul: Pengaruh Ozonisasi terhadap Kualitas Fisiko-kimia dan Aktivitas Mikroba pada Susu Segar dari Ternak Sehat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh paparan ozon terhadap berat jenis, kadar protein, kadar lemak, *electrical conductivity*, *total plate count* dan produksi *malondealdehyde* pada susu segar yang berasal dari sapi perah sehat. Terdiri dari 4 perlakuan lama ozonisasi yaitu 0 menit, 10 menit, 20 menit, dan 30 menit.



2. Penelitian I^B, berjudul: Pengaruh Ozonisasi terhadap Kualitas Fisiko-kimia dan Residu Antibiotik pada Susu Segar dari Ternak Dalam Masa Pengobatan Antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh paparan ozon terhadap berat jenis, kadar protein, kadar lemak dan degradasi residu antibiotik penisilin pada susu segar dalam pengobatan menggunakan *Biomycin-M*. Terdiri dari 4 perlakuan lama ozonisasi yaitu 0 menit, 10 menit, 20 menit, dan 30 menit.

3. Penelitian II, perlakuan terbaik pada penelitian I^A dan I^B digunakan untuk menganalisis degradasi residu antibiotik penisilin pada susu segar dalam masa pengobatan selama *withdrawal time*. Judul penelitian ini adalah Pengaruh Ozonisasi terhadap Degradasi Residu Antibiotik Penisilin selama *Withdrawal Time*. Tujuan penelitian yaitu membandingkan proses degradasi residu antibiotik penisilin selama *withdrawal time* antara susu dengan perlakuan ozonisasi selama 30 menit dan tanpa perlakuan ozonisasi. Terdiri dari 3 perlakuan yaitu hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5.

4.4 Proses Penelitian

Penelitian diawali dengan observasi kesehatan ternak dan periode laktasinya. Susu segar diperoleh dari sapi perah yang telah memasuki periode ketiga laktasi dan sedang berada pada puncak laktasi. Kemudian dipilih sapi perah yang bebas mastitis dan sapi perah yang terindikasi mastitis sub klinis. Sapi yang terindikasi mastitis sub klinis selanjutnya diberikan terapi pengobatan



menggunakan *Biomycin-M* yang diinjeksikan ke dalam puting. Proses injeksi dilakukan selama 3 hari berturut-turut sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Pemerahan dilakukan pada pagi hari dengan menggunakan mesin perah, disaring kemudian dimasukkan ke dalam *milk can* yang berbeda dan selanjutnya dianalisis di laboratorium. Sambil menunggu susu mencapai suhu ruang, dilakukan penyiapan generator ozon. Adapun kegiatan pra penelitian yang dilakukan selengkapnya disajikan pada Gambar 9 berikut ini:



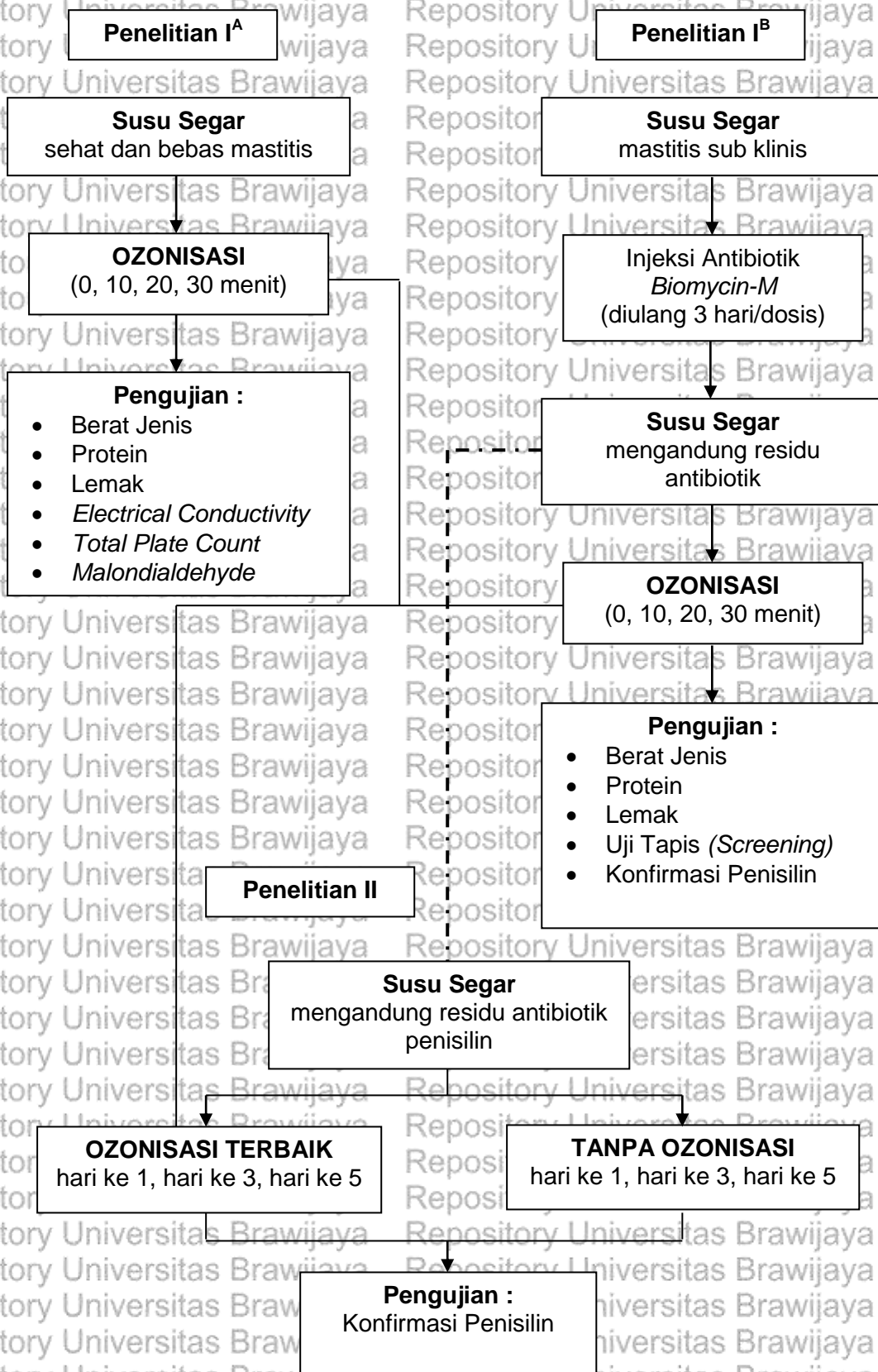
Gambar 9. Penyiapan sampel penelitian. (A) Biomycin-M, antibiotik komersial yang digunakan dalam penelitian; (B) Proses injeksi intramammary; (C) Proses pemerahan dengan mesin perah; (D) Preparasi generator ozon.

Sampel sebanyak 1.000 mL dimasukkan dalam gelas ukur dan diaduk hingga rata. Kemudian selang outlet pada generator ozon yang ujungnya telah dipasang *stone filter* dimasukkan ke dalam sampel, tutup gelas ukur dengan plastik *wrapping* dan nyalakan generator ozon sesuai durasi waktu yang telah ditentukan. Penelitian I^A, susu segar diberikan paparan ozon selama 0, 10, 20



dan 30 menit kemudian dianalisis berat jenis, kadar protein, kadar lemak, *electrical conductivity* (EC), *total plate count* (TPC) dan produksi *malondialdehyde* (MDA). Penelitian I^B, susu segar dari sapi dalam pengobatan menggunakan antibiotik diberikan paparan ozon selama 0, 10, 20 dan 30 menit selanjutnya dianalisis berat jenis, kadar protein, kadar lemak, dan residu antibiotiknya secara umum menggunakan uji tapis dan konfirmasi penisilin. Paparan ozon yang digunakan dalam penelitian selama 0, 10, 20 dan 30 menit akan menghasilkan ozon setara 0 mg/L; 7,02 mg/L; 14,04 mg/L dan 21,06 mg/L. Pemilihan waktu ozonisasi dan konsentrasi ozon yang digunakan mengacu pada penelitian Cavalcante *et al.* (2013) dan Alsager *et al.*, (2018). Ozonisasi dengan 1,5 mg/L selama 15 menit dapat menghilangkan jumlah bakteri dan jamur hingga 1 log₁₀ CFU/mL. *Amoxycillin* pada air terdegradasi hingga 70% seiring dengan meningkatnya konsentrasi ozon dari 15 mg/L sampai 37.5 mg/L. Perbedaan lama ozonisasi diharapkan dapat memberikan referensi tentang konsentrasi ozon yang tepat di setiap perlakuan pada sampel susu segar.

Penelitian II, perlakuan terbaik pada penelitian I^A dan I^B digunakan dalam menentukan waktu paparan ozonisasi yang tepat untuk mendegradasi residu antibiotik Penisilin selama *withdrawal time*, selanjutnya dianalisis pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5. Data yang dihasilkan akan dibandingkan dengan susu segar tanpa perlakuan ozonisasi. *Biomycin-M* termasuk antibiotik berspektrum sempit dengan *withdrawal time* minimal 5 hari pasca pengobatan (Meutia dkk., 2016). Pengamatan pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5 diharapkan dapat memberikan referensi tingkat penurunan residu antibiotik penisilin selama *withdrawal time* antara sebelum dan sesudah ozonisasi. Adapun tahapan penelitian ini selengkapnya dapat dilihat dalam Gambar 10 berikut ini :



Gambar 10. Diagram alir penelitian



4.5 Variabel Penelitian

Penelitian I^A, susu diuji berat jenis, kadar lemak, kadar protein, *electrical conductivity*, *total plate count* dan produksi *malondialdehyde*. Penelitian I^B, susu diuji berat jenis, kadar lemak, kadar protein, residu antibiotik pada susu segar secara kualitatif menggunakan tapis screening dan kuantitatif menggunakan *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)* untuk konfirmasi Penisilin. Sedangkan pada penelitian II, susu yang mengandung residu antibiotik diuji secara kualitatif dan kuantitatif selama *withdrawal time* kemudian dibandingkan kualitasnya antara sebelum dan sesudah perlakuan ozonisasi.

4.5.1 Berat jenis, Kadar Protein, dan Kadar Lemak

Pengujian berat jenis, kadar protein dan kadar lemak susu diperoleh dari pembacaan hasil pada alat *Lactoscan MCC* (Anonim, 2015), selengkapnya disajikan pada Lampiran 1.

Setelah alat dinyalakan, dilakukan pengaturan jenis sampel dan dipilih indikator sampel "COW". Sampel susu dimasukkan ke dalam gelas sampel sebanyak 10 mL lalu diletakkan pada pipa penghisap sampel dan tekan "ENTER". Prinsip kerja alat ini adalah membaca gelombang bunyi *ultrasonic* pada sampel susu, setelah sampel terbaca oleh sensor, maka alarm akan berbunyi. Proses pembacaan sampel akan berlangsung selama 51 detik, hasil analisis akan muncul di layar *display* dan tercetak pada *printer*. Proses pengujian dengan *Lactoscan MCC*, disajikan pada Gambar 11 berikut ini:



Gambar 11. Pengujian dengan Lactoscan MCC

4.5.2 *Electrical Conductivity*

Pengujian *electrical conductivity* diperoleh dari pembacaan hasil pemeriksaan susu segar pada alat *Draminski Mastitis Detector* (Galfi *et al.*, 2015), selengkapnya disajikan pada Lampiran 2.

Setelah alat dinyalakan dan muncul tanda (- -) pada *display*, sampel dimasukkan sebanyak 5 mL ke dalam mangkuk kemudian ditekan *ENTER*. Angka yang muncul pada *display* dicatat (Gambar 12) dan diinterpretasikan sesuai Tabel 10.



Gambar 12. Pengujian *electrical conductivity* menggunakan *Draminski Mastitis Detector*

Pembacaan *Draminski Mastitis Detector* mengacu pada *electrical resistance* (ER) sampel sehingga berbanding terbalik dengan kondisi *electrical conductivity* (EC) sesungguhnya. Semakin tinggi angka yang tertera pada bacaan alat menunjukkan semakin tinggi nilai ER dan semakin rendah nilai EC sampel yang berarti kualitas susu semakin baik.

Tabel 10. Interpretasi pembacaan hasil pemeriksaan susu segar menggunakan *Draminski Mastitis Detector* (Galfi et al., 2015).

Pembacaan Hasil	Indikator Penilaian
Diatas 300 unit	Sampel susu berkualitas tinggi dan sehat. Kejadian mastitis sub klinis sangat rendah
Antara 250 – 300 unit	Sampel susu terindikasi mastitis sub klinis. Penurunan angka pembacaan hasil menunjukkan kejadian infeksi sub klinis yang semakin meningkat
Dibawah 250 unit	Sampel susu terindikasi mengalami infeksi yang sangat cepat dari mastitis subklinis menjadi klinis. Ini ditandai dengan jumlah sel somatik yang meningkat menjadi dari satu juta



4.5.3 Total Plate Count

Pengujian *Total Plate Count* diperoleh dengan cara penghitungan Angka Lempeng Total menurut SNI 01-2332.3-2006: Prosedur penentuan

Total Plate Count (BSN, 2006), selengkapnya disajikan pada Lampiran 3.

Sampel ditimbang secara aseptis sebanyak 25 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik steril, kemudian ditambahkan 225 mL larutan buffer fosfat dan dihomogenkan menggunakan *Stomacher* selama 2 menit (larutan pengenceran 10^{-1}). Diambil 1 mL homogenat menggunakan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 9 mL larutan buffer fosfat untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} .

Tahap inokulasi dilakukan dengan memipet 1 mL dari setiap pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan seterusnya, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dilakukan secara duplo untuk setiap pengenceran. ditambahkan 12-15 mL *Plate Count Agar (PCA)* yang sudah didinginkan dalam *waterbath* hingga mencapai suhu 45 ± 1 °C ke dalam masing-masing cawan yang sudah berisi sampel. Supaya sampel dan media PCA tercampur sempurna, maka dilakukan pemutaran cawan petri membentuk angka delapan. Penambahan media PCA ke dalam cawan petri sebanyak 40-50 mL, setelah media agar memadat dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu 35 °C dalam posisi terbalik. Penghitungan *total plate count* dilakukan dengan persamaan sebagai berikut:



$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Keterangan :

N : jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per mL atau koloni per gram

$\sum C$: jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 : jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 : jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d : pengenceran pertama yang dihitung

4.5.4 Produksi *Malondialdehyde*

Produksi *malondialdehyde* (MDA) pada susu yang terpapar ozonisasi dilakukan menurut Mahdi *et al.* (2017) yang telah dimodifikasi.

Analisis MDA dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm, kemudian diplot pada kurva standar yang selengkapnya disajikan pada Lampiran 4.

Langkah pertama adalah membuat kurva standar MDA. Komposisi positif (+) terbuat dari sampel susu sebanyak 200 μ L yang ditambahkan TCA 10% sebanyak 10 mL, HCL 1 N 200 μ L dan *Na-Thiobarbituric* 10% sebanyak 200 μ L. Selanjutnya dibuat komposisi negatif (-) yang terbuat dari sampel susu sebanyak 200 μ L yang ditambahkan TCA 10% sebanyak 10 mL, HCL 1 N 200 μ L (tanpa *Na-Thiobarbituric* 10%). Larutan kemudian dipanaskan menggunakan *waterbath* pada suhu 105 °C selama 25 menit, lalu didinginkan hingga mencapai suhu 40 °C. Langkah selanjutnya adalah sentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan disaring kemudian ditambahkan aquabides. Selanjutnya absorbansi supernatan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (532 nm) dan diplot pada kurva standar yang untuk menghitung konsentrasi MDA.



4.5.5 Uji Kualitatif Antibiotik

Analisa kualitatif antibiotik penisilin diperoleh melalui metode uji tapis (*screening test*) residu antibiotika secara *bio assay* menurut SN 7424-2008 (BSN, 2008), selengkapnya disajikan pada Lampiran 5.

Residu antibiotik akan menghambat pertumbuhan mikroba pada media agar, penghambatan dapat dilihat dengan terbentuknya daerah hambatan disekitar kertas cakram atau *silinder cup* atau *agar well*. Besarnya diameter daerah hambatan menunjukkan konsentrasi residu antibiotik. Analisa kualitatif antibiotik secara *bio assay* dilakukan dengan cara mengamati dan mengukur diameter daerah hambatan yang terbentuk di sekeliling kertas cakram atau yang sejenis dengan menggunakan alat ukur yang sesuai. Kontrol positif harus membentuk daerah hambatan dari tepi kertas cakram atau yang sejenis. Kontrol negatif harus tidak membentuk daerah hambatan. Diameter hambatan yang terbentuk pada contoh sebaiknya berada dalam kisaran atau *range* kurva baku, apabila diameter hambatan yang terbentuk melebihi nilai kurva baku maka contoh harus diencerkan. Khusus untuk golongan penisilin, sampel dinyatakan positif apabila pada *plate* yang ditetesi larutan enzim *penicillinase* tidak membentuk daerah hambatan.

4.5.6 Uji Kuantitatif Antibiotik.

Analisa kuantitatif residu antibiotik penisilin yang diamati menurut Ball (2009) yaitu konfirmasi penisilin menggunakan *High Performance Liquid Chromatography HPLC/UV and HPLC/MS/MS* yang selengkapnya disajikan pada Lampiran 6.



Residu golongan penisilin dipisahkan dari matrik contoh, dimurnikan, kemudian diidentifikasi dan dikuantifikasi pada *HPLC* dengan kolom fase terbalik C-18 menggunakan detector UV pada panjang gelombang 220 nm. Pengujian selalu disertai dengan kontrol positif (5 gram contoh yang ditambah larutan standar (baku) pembandingan dengan konsentrasi 10 µg/mL sebanyak 75 µL, sehingga dihasilkan konsentrasi akhir 0.15 µg/gram atau 0.15 µg/mL). Pembacaan hasil *HPLC* dilakukan dengan pengamatan terhadap kurva pada kromatogram. Adanya kurva dengan waktu tambat yang sama dengan waktu tambat standar menunjukkan adanya residu penisilin (PC) pada sampel. Apabila area yang dihasilkan dari sampel melebihi area kurva kalibrasi, maka ekstrak dapat diencerkan sampai diperoleh area dalam rentang kurva kalibrasi.

Kadar residu penisilin (PC) dihitung menggunakan persamaan garis:

$$y = a + bx, \text{ dengan perincian :}$$

y : area contoh

a : *intercept*

b : *slope*

$$\text{Kadar residu (}\mu\text{g/gram atau } \mu\text{g/mL)} = \frac{X \times V_s}{B}$$

Keterangan :

X : Konsentrasi residu dalam contoh hasil integrasi kurva (µg/gram atau µg/mL)

V_s : Volume akhir sebelum injeksi (mL)

B : Berat contoh (gram) atau volume contoh (mL)

4.6 Analisis Statistik

Data penelitian I^A dan I^B meliputi berat jenis, kadar protein, kadar lemak, *electrical conductivity*, *total plate count*, produksi *malondialdehyde* dan uji kuantitatif residu antibiotik penisilin menggunakan Rancangan Acak Lengkap



Pola Searah, sedangkan pengaruh interaksi antara waktu dan suhu ozonisasi terhadap produksi *malondialdehyde* dan uji kualitatif residu antibiotik pada susu dianalisis secara deskriptif. Adapun data yang dihasilkan pada penelitian II yaitu analisis kualitatif dan kuantitatif residu antibiotik penisilin pada susu selama *withdrawal time* dianalisis secara deskriptif dan dianalisis menggunakan *Paired T-test*. Setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan dan apabila terdapat perbedaan akan diteruskan menggunakan uji Duncan. Seluruh data yang dihasilkan dianalisis menggunakan *IBM SPSS Statistics versi 24.0 for Windows*.

4.7 Batasan Istilah

Ozon : diproduksi oleh generator ozon komersial merk HANACO dengan kapasitas produksi per menit mencapai 0,702 mg/L pada suhu 24-27 °C memanfaatkan sumber oksigen dari udara bebas yang tersedia di alam. Mekanisme kerja generator ozon ini adalah memecah beberapa atom oksigen normal menjadi atom tunggal yang tidak stabil, kemudian menempel pada molekul oksigen lainnya menjadi ozon dengan bantuan kejutan listrik bertegangan tinggi. Ozon yang dihasilkan dialirkan melalui pipa yang dilengkapi dengan filter untuk menghasilkan gelembung udara sehingga transfer massa ozon dapat merata pada seluruh bagian susu.



Fisiko-kimia : karakteristik susu segar yang aspek penilaiannya meliputi berat jenis, kadar protein dan kadar lemak.

Aktivitas mikroba : kualitas mikrobiologis pada susu segar yang penilaiannya didasarkan pada konsentrasi *electrical conductivity*, *total plate count* dan produksi *malondialdehyde* pada susu setelah mendapatkan perlakuan ozonisasi.

Antibiotik : jenis obat-obatan ternak yang lazim digunakan untuk penanganan mastitis sub klinis/klinis menggunakan merk *Biomycin-M*, *Interchime Holland* dengan komposisi *Amoxycillin trihydrate* 100 mg dan *Neomycin sulphate* 50 mg yang diinjeksikan ke dalam puting sapi perah selama tiga hari berturut-turut sesuai dosis yang dianjurkan.

Penisilin kelompok antibiotik yang ditandai oleh adanya cincin β -laktam dan diproduksi oleh berbagai jenis jamur (eukariot) yaitu dari jenis *Penicillium*, *Aspergillus*, serta oleh beberapa prokariot tertentu.

Withdrawal time : waktu paruh yang dibutuhkan ozon tertinggal dalam susu sebelum terdekomposisi dan waktu paruh antara pemberian antibiotik terakhir sampai dengan residunya termetabolisme sehingga susu aman untuk dikonsumsi.



Susu segar : Susu hasil pemerahan pagi pada periode ketiga laktasi yang berasal dari sapi perah sehat dan sapi perah dalam masa pengobatan menggunakan antibiotik selama *withdrawal time*.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Penelitian I^A: Pengaruh Ozonisasi Terhadap Kualitas Fisiko-kimia dan Aktivitas Mikroba Susu Segar dari Ternak Sehat

5.1.1 Berat Jenis

Hasil pengujian berat jenis susu segar dengan perlakuan ozonisasi

menggunakan waktu yang berbeda disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata berat jenis susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (g/mL)

Lama Ozonisasi	Berat Jenis (g/mL)
0 menit	1,0285±0,0004
10 menit	1,0280±0,0005
20 menit	1,0282±0,0005
30 menit	1,0288±0,0002

Keterangan : Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata $P>0,05$.

Berat jenis merupakan pengujian standar sebagai parameter awal untuk mengetahui jumlah padatan susu dan pemalsuan susu (Tesfay *et al.*, 2015). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap berat jenis susu segar. Susu segar tanpa perlakuan ozonisasi mempunyai berat jenis sebesar 1,0285 g/mL, hanya berbeda 0,0003 g/mL jika dibandingkan dengan waktu ozonisasi terlama yaitu selama 30 menit.

Hal ini menunjukkan bahwa paparan ozon dengan metode gelembung udara selama 30 menit tidak memberikan perubahan berat jenis susu segar. Menurut FAO (2020), berat jenis susu berkisar antara 1,026-1,034 g/cm³ pada suhu 15-20 °C, sedangkan menurut SNI 01-3141-2011 tentang Persyaratan Mutu Susu Segar disebutkan bahwa berat jenis susu



segar pada suhu minimal 27,5 °C adalah 1,0270 g/mL. Berat jenis susu tergantung pada komposisi susu terutama kandungan lemak dan bahan padatan susu, karena berat jenis lemak lebih rendah dibandingkan berat jenis air ataupun plasma susu (Legowo dkk., 2009). Sedangkan komposisi susu sapi bervariasi tergantung pada interval pemerahan, waktu pemerahan, pakan, jenis ternak serta kualitas susu yang berkaitan dengan ada tidaknya pemalsuan susu (Asefa *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil penelitian, berat jenis susu sampel baik susu kontrol maupun susu dengan perlakuan ozonisasi mempunyai berat jenis yang masih memenuhi standar FAO dan SNI. Waktu pemerahan dan pakan menjadi faktor yang paling berpengaruh terhadap berat jenis susu yang dihasilkan. Sampel susu diambil dari pemerahan pagi dengan periode interval pemerahan sekitar 14-16 jam dari pemerahan sebelumnya, sehingga sekresi air lebih banyak dari padatannya dan pakan yang diberikan dalam jumlah yang terbatas.

Suhu pengujian juga memberikan pengaruh terhadap angka penilaian berat jenis susu, pada suhu rendah viskositas akan semakin tinggi sehingga berat jenis susu akan naik dan sebaliknya (Sukmawati, 2014). Menurut Hamodah *et al.*, 2019, teknologi ozonisasi tidak meninggalkan residu kimiawi pada produk makanan yang terpapar karena bersifat labil dan cepat berubah menjadi senyawa *non toxic* yang ramah lingkungan. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Cavalcante *et al.* (2013), paparan ozon sebanyak 1,5 mg/L selama 15 menit tidak menimbulkan perubahan kualitas fisiko-kimia susu segar baik sebelum maupun sesudah ozonisasi. Tidak adanya perubahan suhu sebelum dan



sesudah ozonisasi serta tidak terbentuknya residu ozon yang dapat mempengaruhi komposisi senyawa yang terdapat dalam susu mengakibatkan berat jenis susu tidak berbeda antara sebelum dan sesudah ozonisasi.

5.1.2 Kadar Protein

Hasil pengujian kadar protein susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Rata-rata kadar protein susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

Lama Ozonisasi	Kadar Protein (%)
0 menit	3,39±0,03
10 menit	3,38±0,02
20 menit	3,40±0,03
30 menit	3,40±0,03

Keterangan : Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata $P>0,05$.

Kadar protein dan laktosa akan mempengaruhi konsentrasi bahan kering tanpa lemak (BKTL) susu segar. Semakin tinggi kadar protein dan laktosa akan berbanding lurus dengan peningkatan BKTL dan berkorelasi positif terhadap harga jual susu segar (Ratya dkk., 2017). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap kadar protein susu segar. Kadar protein susu segar dalam penelitian ini berkisar antara 3,38-3,40%, angka tersebut masih di atas ambang minimal SNI 01-3141-2011 tentang Syarat Mutu Susu Segar yaitu minimal 2,8%. Menurut Ogata and Nagahata (2000) ozonisasi tidak menimbulkan ekpose panas dan meninggalkan residu berbahaya dalam susu. Tidak adanya perubahan suhu akan meminimalisir terjadinya denaturasi protein sehingga kualitas

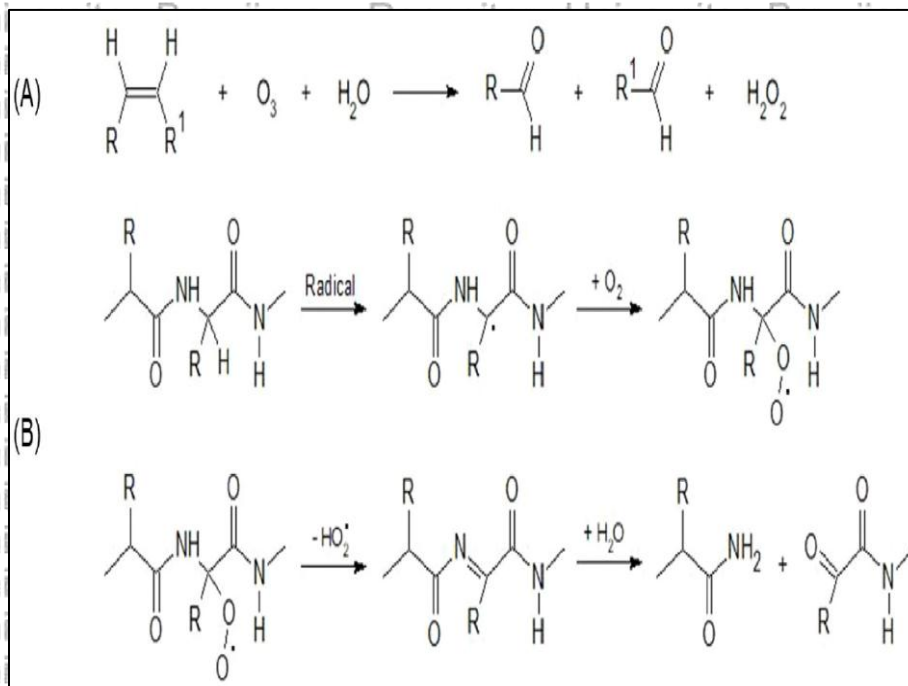


susu segar dapat tetap dipertahankan selama proses ozonisasi. Tidak demikian halnya dengan proses pengolahan susu dengan cara pemanasan. Menurut Wulandari dkk. (2017), proses pasteurisasi dapat menurunkan kadar protein susu hingga mencapai 10,49%. Semakin tinggi suhu dan lama pemanasan, kadar protein susu akan semakin terdegradasi akibat denaturasi yang tinggi. Qian *et al.* (2017) menyatakan bahwa derajat denaturasi protein *whey* meningkat dari 27,31% menjadi 46,50% secara bertahap pada 75 °C dari waktu ke waktu dan meningkat dari 65,30 % menjadi 100 % pada 85°C pada pasteurisasi selama 10, 20 dan 30 menit. Vasbinder *et al.* (2003) melaporkan bahwa denaturasi protein *whey* ada dalam dua bentuk yaitu agregat protein terlarut dan pada permukaan agregasi misel kasein. Dengan demikian, perlakuan panas untuk waktu yang lama dapat meningkatkan gugus hidrofobik dalam interaksinya dengan protein, yang selanjutnya dapat meningkatkan kombinasi β -laktoglobulin dengan κ -casein (Patel *et al.*, 2006).

Paparan ozonisasi dalam air menurut mekanisme yang dijelaskan oleh Davies (2003) seperti tampak pada Gambar 13, ozon yang bersifat dipolar secara langsung berinteraksi dengan asam lemak tak jenuh di PUFA dengan adanya air, kemudian terurai dan memecah asam lemak karbon-ikatan karbon. Akibat pemecahan ini, dua atom C yang awalnya berupa ikatan rangkap akan mencapai bilangan oksidasi keton atau aldehida sementara molekul ozon direduksi menjadi turunan hidrogen peroksida (Gambar 13A). Pada senyawa protein (Gambar 13B), proses oksidasi dapat dimediasi oleh *singlet* oksigen yang diproduksi dalam jumlah besar melalui reaksi ozon dengan molekul biologis. *Singlet*



oksigen dapat menginduksi fragmentasi *backbone* dengan pembentukan senyawa polar yang dipicu dengan pembentukan radikal *backbone* melalui abstraksi atom hidrogen dari α -karbon (Davies, 2003).



Gambar 13. Mekanisme reaksi ozonisasi pada *backbone* protein (Davies, 2003)

Namun berbeda halnya dengan susu, kompleksitas senyawa yang terkandung dalam susu mengakibatkan kinerja ozonisasi bersifat lebih rendah akibat hambatan molekul dari matriks susu. Penurunan pH dapat memprotonasi kelompok berbasis nitrogen yang membuatnya kurang reaktif terhadap reaksi elektrofilik dengan molekul ozon (Chelme-Ayala *et al.*, 2010). Gugus amina yang terprotonasi secara signifikan kurang reaktif terhadap oksidasi ozon, oleh karenanya ozon akan menyerang gugus lainnya seperti cincin aromatik dan atom belerang. Dekomposisi ozon meningkat dengan meningkatnya nilai pH dan menghasilkan produksi radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$). Oksidasi melalui radikal hidroksil lebih kecil



kemungkinannya menjadi mekanisme dekomposisi dominan disebabkan susu mempunyai pH asam mendekati netral (Alsager *et al.*, 2018). Kondisi inilah yang menyebabkan protein pada susu relatif resisten terhadap perlakuan ozonisasi.

5.1.3 Kadar Lemak

Hasil pengujian kadar lemak susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Rata-rata kadar lemak susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

Lama Ozonisasi	Kadar Lemak (%)
0 menit	4,40±0,40
10 menit	4,44±0,44
20 menit	4,49±0,41
30 menit	4,57±0,38

Keterangan : Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata $P>0,05$.

Molekul ozon (O_3) merupakan oksidan elektrofilik yang bereaksi sangat cepat dengan molekul organik yang memiliki gugus nukleofilik seperti karbon-karbon ikatan rangkap, cincin aromatik, dan gugus fungsi yang mengandung belerang, atom fosfor, nitrogen dan oksigen (Huber *et al.*, 2003). Komposisi kimia susu yang kompleks didukung dengan sifat susu yang cenderung asam mengakibatkan kinerja ozon lebih selektif, dengan proses oksidasi dan dekomposisi yang membentuk radikal hidroksil ($\cdot OH$) bekerja kurang maksimal karena adanya gugus amina yang terprotonasi (Alsager *et al.*, 2018). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap kadar lemak susu segar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar lemak susu segar baik



sebelum dan sesudah mendapatkan perlakuan ozonisasi telah memenuhi syarat SNI 01-3141-2011 tentang Syarat Mutu Susu Segar yaitu minimal 3%. Kandungan lemak dalam susu merupakan salah satu komponen penentu harga jual susu di pasaran. Apabila dikaji secara finansial, maka perlakuan ozonisasi tidak merugikan bagi peternak karena tidak mengakibatkan penurunan kadar lemak susu segar (Utami dkk., 2014). Apabila diamati berdasarkan data yang dihasilkan, terdapat kecenderungan peningkatan kadar lemak setelah mendapatkan perlakuan ozonasi. Susu segar tanpa perlakuan ozonasi mempunyai kadar lemak 4,40 persen, dan setelah dilakukan ozonasi pada 10, 20 dan 30 menit dihasilkan kadar lemak masing-masing 4,44 persen, 4,49 persen dan 4,57 persen. Ozon merupakan oksidator kuat yang dapat yang dapat mengoksidasi enzim mikroba dan menyebabkan peroksidasi lipid sehingga berkorelasi terhadap tingkat kerusakan membran sel (Ayala *et al.*, 2014; Mahdi, 2016; Varga and Szigeti, 2016). Lipid dari sel mikroba inilah yang mengakibatkan terjadinya peningkatan konsentrasi kadar lemak susu segar pasca ozonisasi meskipun konsentrasinya relatif kecil. Waktu kontak dan suhu proses ozonisasi sangat mempengaruhi konsentrasi ozon yang terlarut dalam susu sehingga kesempatan untuk memisahkan ikatan lemak dengan protein yang berada dalam susu akan semakin tinggi (Rusdi dan Suliasih, 2002). Penggunaan generator ozon dengan metode gelembung udara akan meningkatkan homogenitas dan konsentrasi ozon yang terlarut dalam susu (Cavalcante *et al.*, 2013) sehingga lemak akan merata ke seluruh bagian susu dan homogen



sehingga saat dilakukan analisis konsentrasi lemak yang terdeteksi akan lebih tinggi

5.1.4 *Electrical Conductivity*

Hasil pengujian menggunakan *Draminski Mastitis Detector - Poland* pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Rata-rata pembacaan hasil *Draminski Mastitis Detector* pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (unit)

Lama Ozonisasi	Pembacaan Hasil (unit)
0 menit	376,67±3,33 ^a
10 menit	376,67±13,33 ^a
20 menit	386,67±3,33 ^{ab}
30 menit	400,00±10,00 ^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata $P < 0,05$.

Susu memiliki sifat konduktif karena adanya senyawa bermuatan seperti garam mineral. Peningkatan aktivitas mikroba dalam susu mengakibatkan penurunan pH dan peningkatan keasaman, kondisi ini akan mengubah bentuk mineral susu dari koloid menjadi larut. Penurunan pH menyebabkan hidrogenasi ion monohidrogen fosfat menjadi ion dihidrogen fosfat yang memiliki konduktivitas molar lebih rendah dan mengubah kesetimbangan sistem penyangga dan melarutkan garam kalsium dan fosfor yang terikat kasein sehingga angka *EC* akan meningkat (Mucchelti *et al.*, 1994). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap angka pembacaan hasil menggunakan *Draminski Mastitis Detector - Poland*. Pembacaan pada alat tersebut berbanding terbalik dengan kondisi *EC*



sesungguhnya. Ozonisasi selama 10 menit menunjukkan angka 376,67 unit, tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Namun ozonisasi selama 20 dan 30 menit, menunjukkan perbedaan yang signifikan. Angka yang terbaca pada alat mencapai 386,67 dan 400 unit. Semakin tinggi hasil pembacaan pada alat menunjukkan bahwa angka *EC* semakin rendah dan berkorelasi positif terhadap penurunan angka cemaran mikroba dalam susu.

Telah diketahui bersama bahwa *EC* telah lama digunakan untuk mendeteksi mastitis karena berkorelasi positif terhadap *SCC*. Susu yang sehat mempunyai *SCC* kurang dari 200.000 sel/mL (Sharif and Muhammad, 2008). Faktor yang mempengaruhi *EC* adalah konsentrasi anion dan kation dalam susu. Kerusakan jaringan ambing mengakibatkan konsentrasi laktosa dan kalium menurun, sedangkan konsentrasi natrium dan klorida meningkat sehingga berpengaruh terhadap peningkatan *EC* dan penurunan *electrical resistance (ER)* dalam susu. Semakin tinggi angka yang tertera pada bacaan alat menunjukkan semakin tinggi nilai *ER* dan semakin rendah nilai *EC* sampel (Galfi *et al.*, 2015). Menurut Yanthi *et al.*, (2018), *EC* dapat digunakan untuk memprediksi kualitas susu antara lain *total solid (TS)*, *solid non fat (SNF)*, *lactose* dan *freeze point deviation (FPD)* dan berat jenis. Terdapat peningkatan angka pembacaan hasil seiring dengan bertambahnya waktu ozonisasi yang dilakukan. Hal ini menunjukkan bahwa nilai *EC* semakin menurun seiring dengan makin lama waktu ozonisasi yang mengindikasikan bahwa semakin lama waktu ozonisasi akan meningkatkan kualitas susu sampel seiring dengan menurunnya cemaran mikroba penyebab mastitis pada



susu segar. Adanya penurunan EC mengindikasikan susu mengandung lebih sedikit cemaran mikroba baik yang diakibatkan oleh bakteri penyebab mastitis maupun akibat kontaminasi silang. Ozonisasi sangat efektif untuk pemulihan bakteriologis dan klinis dan dapat menjadi alternatif pengobatan antibiotik pada kasus mastitis klinis akut yang disebabkan oleh *coagulase negative Staphylococci*, tetapi tidak terlalu efektif untuk penanganan mastitis yang disebabkan oleh *Streptococci* dan *Candida sp.* (Sertkol et al., 2018). Nilai SCC menurun secara bertahap sejalan dengan waktu pengobatan menggunakan ozonisasi sehingga dapat digunakan untuk alternatif pengobatan mastitis sub klinis (Ogata and Nagahata, 2000; Enginler et al., 2015).

5.1.5 Total Plate Count

Hasil pengujian *Total Plate Count* susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Rata-rata *total plate count* susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (CFU/mL)

Lama Ozonisasi	Total Plate Count (CFU/mL)
0 menit	$0,15 \times 10^6$ ^b
10 menit	$0,13 \times 10^6$ ^{ab}
20 menit	$0,12 \times 10^6$ ^{ab}
30 menit	$0,10 \times 10^6$ ^a

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata $P < 0,05$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel susu yang digunakan telah memenuhi syarat SNI 01-3141-2011 tentang Syarat Mutu Susu Segar, yaitu mempunyai TPC maksimal 1×10^6 CFU/mL. Hal ini mengindikasikan bahwa susu segar berasal dari ternak yang sehat dan mendapatkan penanganan yang baik sehingga kontaminasi silang dapat



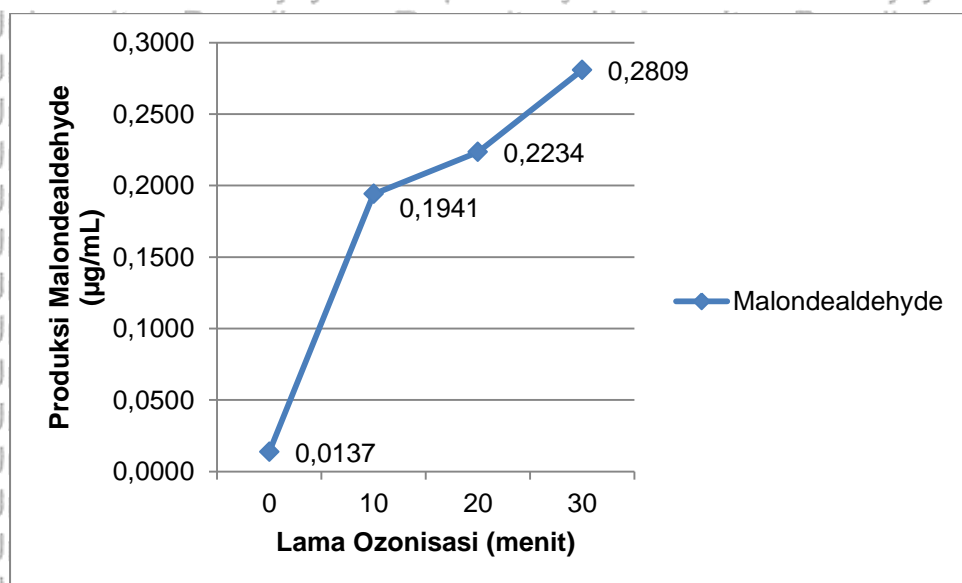
diminimalisir. Adapun analisis secara statistik menunjukkan bahwa perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap *TPC* susu segar. Paparan ozon terbukti efektif menurunkan *TPC* susu segar sampel. Pada sampel tanpa perlakuan ozonisasi, *TPC* susu segar mencapai $0,15 \times 10^6$ CFU/mL dan setelah dilakukan ozonisasi pada 10, 20 dan 30 menit, dihasilkan *TPC* yang menurun yaitu $0,13 \times 10^6$ CFU/mL, $0,12 \times 10^6$ CFU/mL, dan $0,10 \times 10^6$ CFU/mL. Penurunan *TPC* tersebut disebabkan karena ozon merupakan oksidator kuat yang dapat mengoksidasi enzim mikroba dan asam nukleat serta merusak polimer polisakarida makromolekul termasuk DNA, RNA, protein, dan asam lemak, sehingga merusak metabolisme dan reproduksi mikroba. Ozon juga dapat menonaktifkan membran sel atau bereaksi pada membran luar lipoprotein dan polisakarida lemak internal untuk menghasilkan distorsi sel dan untuk melarutkan gen, fag, mikoplasma dan elemen lainnya (Gunten, 2003). Penurunan *TPC* seiring dengan lama paparan ozonisasi dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Cavalcante *et al.*, (2013). Jumlah *Enterobacteriaceae*, mesofilik aerobik, psikrotrofik, khamir dan kapang, serta *Staphylococcus* sp. Pada susu tanpa ozonisasi secara berurutan adalah 2,39; 4,18; 3,01; 2,70; 2,16 log₁₀ CFU/mL. Perlakuan ozonisasi selama 5 menit tidak mampu menurunkan jumlah mikroba susu, akan tetapi ozonisasi selama 10 menit mampu menurunkan cemaran mikroba secara signifikan ($P < 0,05$) yaitu *Enterobacteriaceae* (0,59 log), khamir dan kapang (0,25 log) dan *Staphylococcus* sp. (0,59 log). Perlakuan ozonisasi selama 15 menit mampu meningkatkan inaktivasi mikroba yang



dievaluasi yaitu 0,96; 0,60; 0,13; 0,48 dan 1,02 log₁₀ CFU/mL berturut-turut untuk *Enterobacteriaceae*, mesofilik aerobik, psikrotrofik, khamir dan kapang, serta *Staphylococcus* sp. Ozonisasi menggunakan metode gelembung udara dapat diadopsi sebagai proses pendahuluan yang bertujuan untuk mengurangi jumlah cemaran mikroorganisme dalam susu segar selama penanganan, tanpa mengesampingkan prosedur pemanasan dalam tahapan pengolahannya.

5.1.6 Produksi *Malondialdehyde*

Produksi *malondialdehyde* (MDA) pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda disajikan pada Gambar 14 berikut ini:



Gambar 14. Pengaruh ozonisasi terhadap produksi *malondealdehide* susu segar (µg/mL)

Berdasarkan analisis secara statistik, perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap produksi MDA pada susu segar. Produksi MDA pada

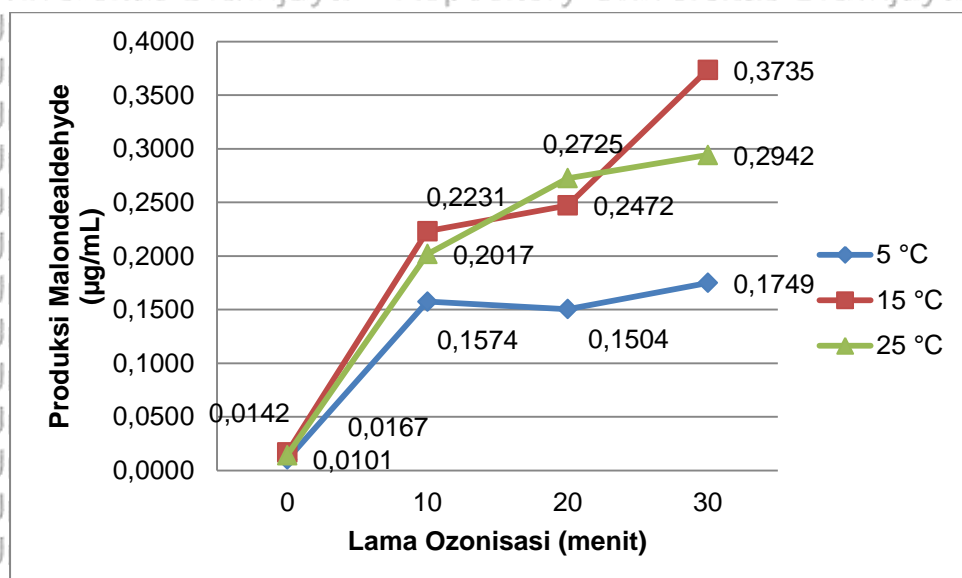


sampel kontrol sebesar 0,0137 $\mu\text{g/mL}$, setelah mendapatkan perlakuan ozonisasi selama 10, 20 dan 30 menit terjadi peningkatan produksi MDA yaitu 0,1941 $\mu\text{g/mL}$, 0,2234 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,2809 $\mu\text{g/mL}$. Semakin lama ozonisasi akan menghasilkan konsentrasi radikal bebas yang semakin tinggi sehingga berkorelasi positif terhadap produksi MDA dan kerusakan membran sel mikroba. Menurut Mahdi (2016), kerusakan membran sel, mitokondria, tingginya kandungan ROS dan radikal bebas, kerusakan sistem enzim dan koenzim dalam oksidatif fosforilasi, siklus beta oksidasi dan menurunnya produksi ATP dan asidosis dapat mendorong terjadinya kematian sel baik secara nekrosis maupun apoptosis. Produksi MDA dalam susu sejalan dengan hasil penelitian Mahdi (2008) yang menunjukkan bahwa berbagai dosis paparan formaldehid sebagai sumber radikal bebas dalam makanan tikus dapat meningkatkan produksi MDA secara nyata yang erat hubungannya dengan kerusakan membran sel. Faktor pembeda dalam kasus ini adalah proses terbentuknya radikal bebas antara paparan ozon dan formaldehid dalam merusak membran sel. Paparan formaldehid berlangsung di dalam tubuh sehingga radikal bebas yang dihasilkan akan berdampak bagi sel makhluk hidup, sedangkan paparan ozon berlangsung di luar tubuh dan bersifat tidak stabil sehingga hanya akan berinteraksi dengan membran sel spesifik khususnya mikroba dalam susu dan setelah masa *withdrawal time* berakhir, produk kembali aman tanpa meninggalkan radikal bebas (Mahdi dan Aulaniam, 2011; Inal *et al.*, 2011).

Apabila proses ozonisasi diamati berdasarkan waktu dan suhu yang berbeda, maka diperoleh data seperti tampak pada Gambar 15.



Seiring dengan lama waktu ozonisasi, produksi MDA pada susu segar yang terpapar ozon akan semakin tinggi. Menurut Sari dan Hadi (2014), generator ozon merk HANACO mampu menghasilkan 0,702 mg/menit pada kondisi suhu ruang 24-27 °C dengan memanfaatkan oksigen yang tersedia di alam. Semakin lama paparan ozon akan meningkatkan produksi radikal bebas yang terbentuk selama dekomposisi ozon. Kondisi ini akan meningkatkan stres oksidatif dan interaksi antara radikal bebas dan PUFA pada susu segar yang pada akhirnya berdampak pada tingginya peroksidasi lipid sehingga berpengaruh terhadap meningkatnya produksi MDA dan kerusakan membran sel.



Gambar 15. Produksi *malondealdehyde* pada waktu dan suhu ozonisasi yang berbeda (µg/mL)

Pengaruh suhu ozonisasi terhadap peningkatan produksi MDA dalam susu segar menunjukkan bahwa pada suhu 15 °C kinerja ozon berlangsung lebih efektif jika dibandingkan dengan suhu 5 °C dan 25 °C.

Viskositas susu segar akan meningkat pada suhu rendah sehingga mempengaruhi kelarutan ozon dalam susu. Ozon tidak dapat terdispersi

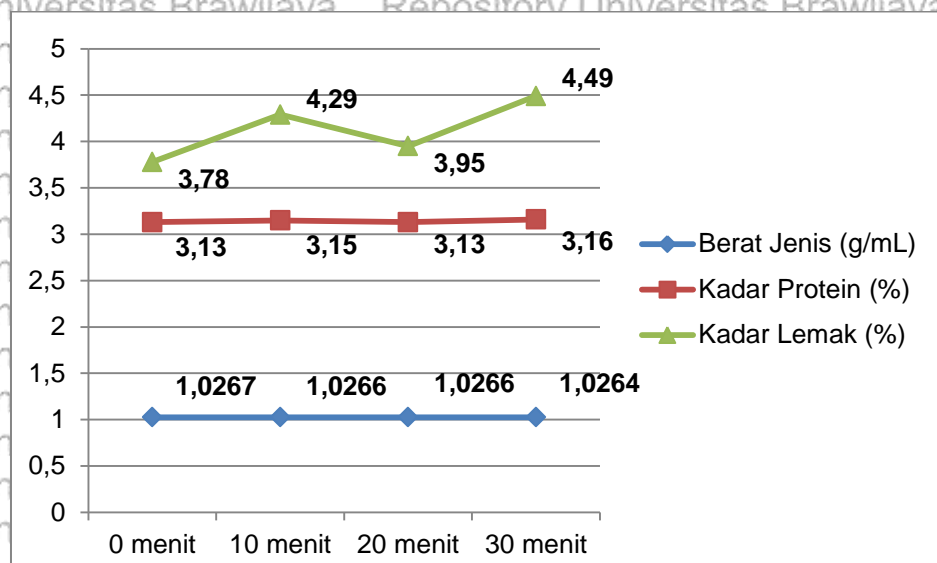


pada seluruh permukaan susu akibat lemak yang mempunyai berat jenis lebih rendah dari air akan membentuk globula yang lebih besar dan naik ke permukaan susu, kondisi ini mengakibatkan stres oksidatif hanya pada lapisan lemak yang bersentuhan langsung dengan ozon. Menurut Lenntech (2018), suhu lingkungan akan mempengaruhi fase pertumbuhan mikroba dan *withdrawal time* ozon dalam air. Mikroba pada fase log (pertumbuhan eksponensial) sangat sensitif terhadap senyawa antimikroba seperti ozon dan mengakibatkan kerusakan membran sel yang berujung pada kematian (Lenntech, 2018). *Withdrawal time* ozon dapat berlangsung hingga 30 menit pada suhu 15 °C, dan 15 menit pada suhu 25 °C. Radikal bebas dihasilkan pada tahap dekomposisi ozon (Gunten, 2003), sehingga suhu tinggi mengakibatkan *withdrawal time* ozon lebih singkat dan memberikan pengaruh terhadap konsentrasi radikal bebas yang dihasilkan. Kondisi ini berdampak terhadap produksi MDA dan kerusakan membran sel bakteri pada susu segar yang terkena paparan ozon.

5.2 Penelitian^B: Pengaruh Ozonisasi Terhadap Kualitas Fisiko-kimia dan Residu Penisilin pada Susu Segar dari Ternak Dalam Masa Pengobatan Antibiotik

5.2.1 Fisiko-kimia

Hasil analisis fisiko-kimia susu segar dalam masa pengobatan menggunakan antibiotik dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda selengkapnya disajikan dalam Gambar 16 berikut ini :



Gambar 16. Pengaruh ozonisasi terhadap kualitas fisiko-kimia susu segar dalam pengobatan antibiotik

Perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap berat jenis, kadar protein dan kadar lemak susu segar dalam masa pengobatan antibiotik. Berat jenis susu berkisar antara 1,0264-1,0267 g/mL, kadar protein berkisar antara 3,13-3,16 % dan kadar lemak berkisar antara 3,78-4,49 %. Hasil yang diperoleh pada penelitian tahap I^B ini tidak berbeda dengan hasil yang peroleh pada penelitian tahap I^A, meskipun bahan baku yang digunakan berbeda yaitu susu segar yang berasal dari ternak sehat. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan ozonisasi tidak mempengaruhi kualitas fisiko-kimia susu segar. Susu yang mengandung antibiotik mempunyai berat jenis, kadar protein dan kadar lemak yang memenuhi standar FAO dan SNI, tetapi tidak memenuhi syarat keamanan pangan untuk dikonsumsi. Penggunaan antibiotik dapat mengakibatkan residu dalam susu dan selanjutnya memicu reaksi alergi pada manusia setelah dikonsumsi (Khaniki, 2007). Sedangkan menurut Murdiati (1997), residu



antibiotik dalam pangan dapat menimbulkan reaksi alergi, keracunan, gagalnya pengobatan akibat resistensi, dan gangguan mikroflora dalam saluran pencernaan.

Hasil komparasi dengan hasil penelitian tahap ^{1A}, kualitas susu yang berasal dari ternak yang mengalami mastitis sub klinis dan mendapatkan pengobatan antibiotik sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan susu segar yang berasal dari ternak yang sehat. Sapi yang menderita mastitis akan mengalami peradangan pada kelenjar sekresi susu akibat pertumbuhan bakteri. Peradangan menyebabkan peningkatan *permeabilitas* pada sel *epithel mammary*, mengakibatkan perpindahan komponen darah ke susu meliputi sitrat dan bikarbonat sehingga terjadi abnormalitas nilai pH (Taylor, 2006). Menurut Riyanto dkk. (2016), peradangan ambing dapat mempengaruhi produksi susu, pH, keasaman, penampakan susu dan kandungan nutrisi tetapi tidak memberikan pengaruh terhadap berat jenis susu.

5.2.2 Residu Antibiotik

5.2.2.1 Analisis Kualitatif

Hasil pengujian residu antibiotik dengan menggunakan uji tapis (*screening*) pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Analisa kualitatif residu antibiotik pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda

Lama Ozonisasi	Residu Antibiotik
0 menit	Positif
10 menit	Positif
20 menit	Positif
30 menit	Positif



Penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol tanpa mengikuti periode penghentian dapat mengakibatkan residu yang tidak terduga dalam produk makanan dan dapat menyebabkan bahaya kesehatan yang serius bagi konsumen (Chowdury *et al.*, 2015). Sampel susu berasal dari ternak yang mendapat perlakuan injeksi *intramammary* menggunakan antibiotik yang lazim digunakan untuk penanganan mastitis pada ternak merk Biomycin-M. Tiap mL obat ini mengandung *Amoxycillin trihydrate* 100 mg dan *Neomycin sulphate* 50 mg, injeksi dilakukan setiap hari selama 3 hari berturut-turut. Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-1 pasca perlakuan. Residu antibiotik dapat diukur dengan beberapa cara, salah satunya dengan cara *microbiological assay* dari Kundrat. Metode mikrobiologi dari kundrat adalah cara yang dianggap baik, cepat dan sensitif. Prinsip kerja dari metode ini adalah dengan melihat zona hambatan yang dihasilkan oleh antibiotika terhadap mikroba penguji. Salah satu mikroba penguji yang biasa digunakan untuk jaringan dan air susu adalah *Bacillus stearothermophilus* (Sudarwanto, 1990). Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan disekitar kertas cakram dan sebaliknya jika tidak ditemukan zona hambatan, maka hasilnya dinyatakan negatif (Meutia dkk., 2016). Namun pembacaan hasil kualitatif antibiotik golongan penisilin justru sebaliknya, menurut SNI 7424-2008 tentang Metode Uji Tapis (*Screening Test*) Residu Antibiotika pada Daging, Telur dan Susu secara *Bio Assay* dinyatakan bahwa tidak terbentuknya zona hambatan pada *plate* yang ditetesi larutan enzim penisilinase mengindikasikan bahwa sampel tersebut positif mengandung residu antibiotik golongan penisilin (BSN, 2008).

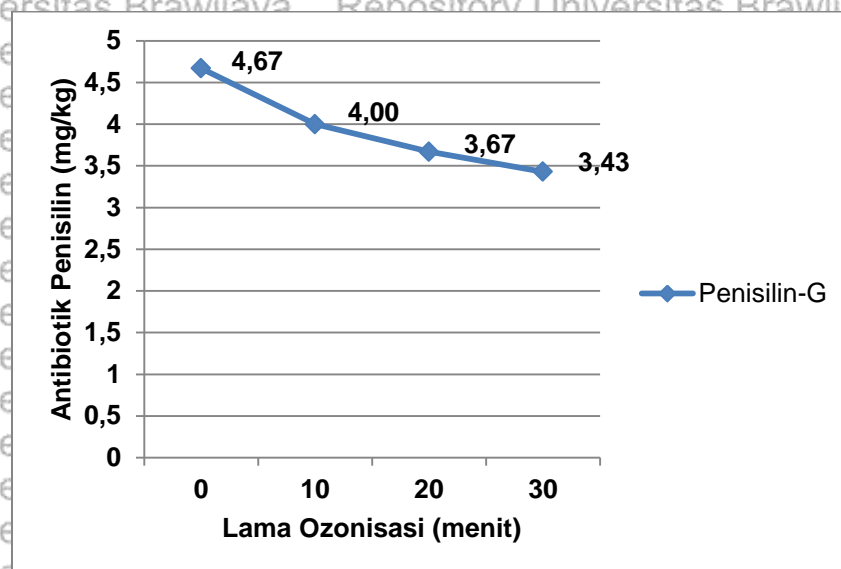


Berdasarkan hasil analisis kualitatif secara *bio assay* terhadap keempat sampel, baik dengan atau tanpa perlakuan ozonisasi seluruhnya tidak membentuk daerah hambatan pada *plate* yang ditetesi larutan enzim penisilinase. Kondisi ini mengindikasikan susu positif mengandung residu antibiotik golongan penisilin, sehingga tidak aman dan layak untuk dikonsumsi manusia. Pemakaian antibiotik yang terus menerus dan tidak memperhatikan waktu henti pemberian antibiotik (*withdrawal time*) dalam bidang peternakan akan menimbulkan residu antibiotika dalam produk hewani yang dapat menyebabkan reaksi alergi, resistensi dan keracunan (Yuningsih, 2004). Dampak residu antibiotik pada konsumen adalah munculnya reaksi alergi (residu penisilin), reaksi keracunan (residu streptomycin), gangguan mikrobiologik, kegagalan pengolahan susu pada pembuatan susu fermentasi, adanya perubahan flora normal pada saluran pencernaan dan munculnya resistensi terhadap mikroba tertentu yang terdapat di lingkungan (Meutia dkk., 2016).

5.2.2.2 Analisis Kuantitatif

Hasil pengujian residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda disajikan dalam bentuk kurva pada kromatogram *HPLC/UV/VIS* seperti pada Lampiran 7. Berdasarkan analisa kuantitatif, konsentrasi residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar disajikan pada visual

Gambar 17:



Gambar 17. Pengaruh lama ozonisasi terhadap residu antibiotik penisilin (mg/kg)

Analisis kuantitatif terhadap residu antibiotik golongan penisilin dilakukan karena komposisi terbesar dalam antibiotik yang diinjeksikan ke hewan coba adalah *Amoxycillin trihydrate* yang termasuk dalam golongan penisilin. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terhadap residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar.

Semakin lama waktu ozonisasi menyebabkan penurunan konsentrasi penisilin pada sampel susu. Ozonisasi selama 30 menit atau setara dengan 21,06 mg/L mampu mendegradasi residu antibiotik golongan penisilin hingga 26,55%. Menurut Alsager *et al.*, (2018), degradasi antibiotik meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ozon dari 15 mg/L sampai 37,5 mg/L. *Amoxycillin* mampu terdegradasi hingga 70% dalam sampel air, sedangkan pada susu mampu terdegradasi hingga 95% setelah mendapatkan paparan ozon sebanyak 75 mg/L. Degradasi



residu antibiotik pada sampel susu lebih efektif dan dapat tercapai pada konsentrasi ozon yang lebih rendah jika dibandingkan dengan sampel air.

Ozon bereaksi dengan antibiotik dengan dua cara berbeda yaitu oksidasi langsung sebagai molekul ozon itu sendiri atau oksidasi tidak langsung melalui pembentukan oksidan sekunder seperti hidroksil radikal bebas ($\bullet\text{OH}$) yang diproduksi selama dekomposisi ozon. Hidroksil radikal ($\bullet\text{OH}$) merupakan oksidan yang kuat untuk menghancurkan senyawa yang tidak dapat dioksidasi oleh oksidan konvensional karena bereaksi secara non selektif dengan senyawa organik yang terdapat dalam air limbah. Peningkatan konsentrasi ozon menyebabkan hidroksil radikal ($\bullet\text{OH}$) lebih banyak terbentuk dan memiliki efisiensi yang tinggi dalam penghilangan antibiotik (Quyen *et al.*, 2016). Dodd *et al.* (2006) melaporkan bahwa hanya empat golongan antibiotik (Penisilin, Cephalexin, Amikacin dan N (4-acetylsulfamethaxazole) di antara 14 antibiotik yang diperiksa secara efektif dioksidasi oleh ozon. Ozon menyerang beberapa kelompok fungsional khusus seperti ikatan rangkap $\text{C}=\text{C}$ atau struktur aromatik (Huber *et al.*, 2005; Nakada *et al.*, 2007).

Menurut SNI 01-6366-2000 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Batas Maksimum Residu dalam Bahan Makanan Asal Hewan, jumlah residu penisilin yang dipersyaratkan maksimal 0,10 mg/kg. Tingginya residu antibiotik golongan penisilin pada sampel baik tanpa perlakuan ozonisasi yaitu sebesar 4,67 mg/kg dan setelah perlakuan ozonisasi selama 10, 20 dan 30 menit secara berturut-turut yaitu 4,00 mg/kg, 3,67 mg/kg dan 3,43 mg/kg disebabkan karena pengujian dilaksanakan pada hari pertama masa *withdrawal time* sehingga residu



antibiotik pada susu sampel masih sangat tinggi. Menurut Meutia dkk., 2016), *withdrawl time* antibiotik spektrum sempit minimal 5 hari setelah pengobatan, sedangkan untuk jenis antibiotik spektrum luas memiliki *withdrawl time* selama 13 hari.

5.3 Penelitian II: Pengaruh Ozonisasi Terhadap Degradasi Residu Antibiotik Golongan Penisilin Selama *Withdrawal Time*

5.3.1 Analisis Kualitatif

Hasil pengujian residu antibiotik dengan menggunakan uji tapis (*screening*) pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi selama 30 menit pada hari yang berbeda disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Analisa kualitatif residu antibiotik pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi selama 30 menit pada hari yang berbeda

Waktu	Residu Antibiotik	
	Sebelum Ozonisasi	Sesudah Ozonisasi
Hari ke-1	Positif	Positif
Hari ke-3	Positif	Positif
Hari ke-5	Positif	Negatif

Berdasarkan hasil analisis kualitatif terhadap residu antibiotik susu segar menunjukkan bahwa pada hari kelima *withdrawal time*, residu antibiotik dalam susu segar dapat dihilangkan dengan perlakuan ozonisasi selama 30 menit. Perlakuan ozonisasi efektif dalam mendegradasi residu antibiotik dalam susu segar dan memperpendek *withdrawal time* antibiotik jika dibandingkan tanpa perlakuan ozonisasi.

Suplai ozon, karakteristik bahan pangan dan metode ozonisasi sangat mempengaruhi efisiensi kerja ozon dalam penghilangan antibiotik (Cavalcante et al., 2013); Quyen et al., 2016; Zheng et al., 2017).

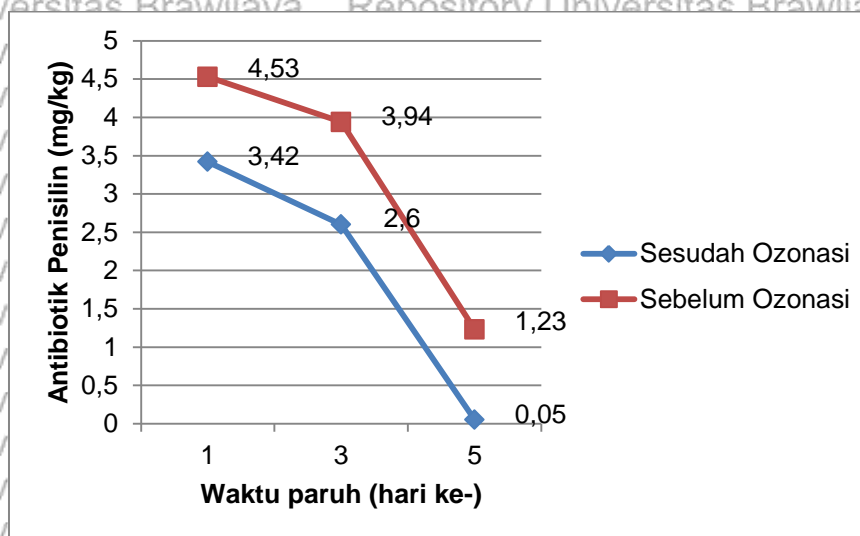
Ozonisasi dengan metode gelembung udara pada produk cair dengan



waktu yang lama memungkinkan hidroksil radikal bebas yang dihasilkan selama dekomposisi ozon lebih banyak dan merata pada seluruh permukaan susu segar, sehingga dapat bereaksi secara optimal dalam menurunkan residu antibiotik yang terdapat di dalam susu segar. Seiring dengan masa *withdrawal time*, konsentrasi residu antibiotik akan terus menurun dan pada konsentrasi tertentu dapat dihapuskan dengan perlakuan ozon, sehingga masa *withdrawal time* antibiotik dapat diperpendek. Menurut Dalmazio et al. (2007), antibiotik golongan tetrasiklin bereaksi cepat dengan ozon dalam cairan akibat teroksidasi oleh turunan kedua melalui *1,3 dipolar cycloaddition* di awal ozonisasi pada ikatan rangkap C11a-C12 dilanjutkan serangan ozon berikutnya pada ikatan rangkap C2-C3 tanpa menimbulkan mineralisasi tetrasiklin atau pembentukan produk samping.

5.3.2 Analisis Kuantitatif

Hasil uji kuantitatif residu antibiotik penisilin pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi selama *withdrawal time* disajikan dalam Gambar 18 berikut ini:



Gambar 18. Perbandingan residu antibiotik penisilin selama *withdrawal time* pada susu segar dalam masa pengobatan (mg/kg)

Berdasarkan hasil pengujian secara kuantitatif terhadap residu antibiotik penisilin selama *withdrawal time* antara sebelum dan sesudah perlakuan ozonisasi menunjukkan bahwa ozonisasi selama 30 menit memberikan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Pada hari pertama, ketiga dan kelima *withdrawal time*, degradasi residu antibiotik penisilin antara sebelum dan sesudah perlakuan ozonisasi berturut-turut mencapai 26,55%, 34,01% dan 95,93% dengan rata-rata harian mencapai 52,16% dalam 5 hari. Degradasi antibiotik dalam sampel susu lebih efisien dengan konstanta laju yang lebih cepat yang dikaitkan dengan *self-buffering* karakteristik susu. Perlakuan ozonisasi menyebabkan kerusakan antibiotik hingga ke fragmen yang lebih sederhana dari sifat alifatik. Menurut Alsager *et al.*, (2018), kultur bakteri *E. coli* dapat ditumbuhkan pada media pasca ozonisasi. Hal ini memberikan bukti bahwa produk dekomposisi ozon tidak memiliki aktivitas antimikroba dan aman bagi makhluk hidup. Proses ozonisasi dapat menjadi alternatif untuk mendegradasi antibiotik yang berkontribusi pada masalah lingkungan dan



kesehatan yang berkembang akibat resistensi antimikroba. Menurut Meutia dkk. (2016), *withdrawl time* antibiotik spektrum sempit minimal 5 hari setelah pengobatan, sedangkan untuk jenis antibiotik spektrum luas memiliki *withdrawl time* selama 13 hari. Pengobatan *intramammary* menggunakan antibiotik spektrum sempit untuk menangani penyakit mastitis masa *withdrawl time* ditetapkan selama minimal 7 hari. Penggunaan ozon selama 30 menit dapat menurunkan residu antibiotik Penisilin hingga mencapai 0,05 mg/kg pada hari kelima. Angka tersebut telah memenuhi ambang batas maksimum residu penisilin menurut SNl 01-6366-2000 yaitu 0,10 mg/kg. Ozonisasi selama 30 menit dapat menghilangkan antibiotik Penisilin pada hari kelima masa *withdrawal time* sehingga susu menjadi aman dan layak dikonsumsi dan resiko kehilangan hasil yang dialami peternak akibat antibiotik dapat diminimalisir.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Paparan ozon dapat mempengaruhi aktivitas mikroba tanpa mengakibatkan perubahan kualitas fisiko-kimia susu segar yang berasal dari ternak sehat.
2. Paparan ozon dapat menurunkan residu penisilin tanpa mengakibatkan perubahan kualitas fisiko-kimia susu segar yang berasal dari ternak dalam masa pengobatan antibiotik.
3. Paparan ozon selama 30 menit atau setara dengan 21,06 mg/L efektif menurunkan residu penisilin pada susu segar pasca pengobatan antibiotik hingga mencapai ambang minimum cemaran yang dipersyaratkan dalam SNI 01-6366-2000 dan memperpendek *withdrawal time* pada hari ke-5 dengan rata-rata penurunan sebesar 37,46% per hari jika dibandingkan dengan susu segar pasca pengobatan antibiotik tanpa perlakuan ozonisasi.

6.2 Saran

1. Ozonisasi dapat direkomendasikan untuk penanganan susu segar karena mempunyai kemampuan untuk menekan angka cemaran mikroba dan memperpendek *withdrawal time* residu antibiotik tanpa mempengaruhi kualitas fisiko-kimia dan meninggalkan residu berbahaya dalam susu. Teknologi ini diharapkan dapat menjadi solusi untuk menekan angka kehilangan hasil produksi susu di Indonesia.



2. Perlu dilakukan kajian lebih lanjut tentang pemanfaatan ozon misalnya untuk memperpanjang masa simpan, degradasi pestisida dan residu antibiotik lainnya yang sering dijumpai dalam produk hasil peternakan.



DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, S., dan Rienoviar. 2011. Pengaruh konsentrasi ozon terhadap cemaran mikroba pada air minum dalam kemasan. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 22(1): 44-51.
- Alsager, O.A., M.N. Alnajrانيا, H.A. Abuelizzb, and I.A. Aldaghmania. 2018. Removal of antibiotics from water and waste milk by ozonation: kinetics, byproducts, and antimicrobial activity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 158: 114-122.
- Anonimus. 2015. Prosedur pengujian kualitas susu segar menggunakan *Lactoscan* MCC. Divisi Processing Susu. Balai Besar Pelatihan Peternakan. Batu.
- . 2018. Outlook susu 2018. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Sekretariat Jenderal. Kementerian Pertanian RI. Jakarta.
- Asefa, Z., and G. Teshome. 2019. Physical properties and chemical compositions of raw cow milk in milk shades around Addis Ababa, Ethiopia. *Journal of Natural Sciences Research*. 9(19):33-37.
- Asgar, A. 2014. Iptek hortikultura : Teknologi ozonisasi untuk mencuci sayuran. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Lembang
- Ayala, A., M. Munoz, and S. Arguelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Publishing Corporation. UK.
- Ball, B.R. 1997. Whole effluent toxicity reduction by ozone environmental progress. 16(2): 121-124.
- Ball, C. 2009. Determination of Penicillins in Meat by High Performance Liquid Chromatography (HPLC/UV) and HPLC/MS/MS. Agilent Technologies, Inc. USA.
- Barth, M.M., C. Zhou, J. Mercier, and F.A. Payne. 2006. Ozon Storage Effects on Anthocyanin Content and Fungal Growth in Balckberrises, *J. Food Sci*, 60(6): 1286-1288.
- Bobos, S., M. Radinovic, B. Vidic, M. Pajic, V. Vidic, and A. Galfi. 2013. Mastitis therapy: direct and indirect costs. *Biotechnol. Anim. Husb*. 29(2): 269-275.
- BSN. 2000. SNI 01-6366-2000 : Batas maksimum cemaran mikroba dan batas maksimum residu dalam bahan makanan asal hewan. Jakarta.



BSN. 2006. SNI 01-2332.3-2006 : Prosedur penentuan *Total Plate Count* (angka lempeng total). Jakarta.

_____. 2008. SNI 7424-2008) : Metode uji tapis (*screening test*) residu antibiotika pada daging, telur dan susu secara *bio assay*. Jakarta.

_____. 2011. SNI 01-3141-2011 : Susu Segar. Jakarta.

Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet and M. Wotton. 2010. Ilmu pangan. Terjemahan : H. Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta.

Canzani, D., and F. Aldeek. 2017. Penicillin G's function, metabolites, allergy, and resistance. *J. Nutr. Hum.* 1(1): 28-40.

Cavalcante, D.A., B.R.C.L. Junior, A.A.L. Tribst, and M. Cristianini. 2013. Improvement of the raw milk microbiological quality by ozone treatment. *International Food Research Journal* 20(4): 2017-2021.

Chelme-Ayala, P., M.G. El-Din, and D.W. Smith, 2010. Kinetics and mechanism of the degradation of two pesticides in aqueous solutions by ozonation. *Chemosphere*. 78(5):557-562.

Chen, Y.Y., Y.L. Ma, J. Yang, L.Q. Wang, J. Min, and C.J. Ren. 2017. Aqueous tetracycline degradation by H_2O_2 alone: Removal and transformation pathway. *Chemical Engineering Journal*. 307: 15-23.

Chowdhury, S., M.M. Hassan, M. Alam, S. Sattar, M.S. Bari, A.K.M. Saifuddin, and M.A Hoque. 2015. Antibiotic residues in milk and eggs of commercial and local farms at Chittagong, Bangladesh. *Veterinary World*. 8(4):467-471.

Davies, M.J. 2003. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun*. 305(3): 761-770.

Dalmazio, I., O. Mariana, Almeida, and R. Augusti. 2007. Monitoring the degradation of tetracycline by ozone in aqueous medium via atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *American Society for Mass Spectrometry*. Elsevier Inc. 07: 1044-0305.

Dodd, M.C., M.O., Buffle, and U. Von Gunten. 2006. Oxidation of antibacterial molecules by aqueous ozone: moiety-specific reaction kinetics and application to ozone-based wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* 40(6): 1969-1977.

Dzidic, S., J. Suskovic, and B. Kos. 2008. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technol. Biotechnol.* 46 (1): 11- 21.



Enginler, S.O., A. Sabuncu, B.B. Kahraman, O. Kocak, E. Yildar, and O. Guzel. 2015. Comparison of intramammary ozone administration doses in dairy cows with clinical mastitis. *Acta Scientiae Veterinariae*. 43(1260): 1-7.

FAO. 2020. Properties of Milk. www.fao.org. Diakses pada 25 September 2020.

Garcia, A., J.R. Mount, and P.M. Davitson. 2003. Ozon and chlorine treatment of minimally processed lettuce. *Journal Food Science*. 68 (9): 2747-2751.

Gunten, U.V. 2003. Review ozonation of drinking water: part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37(7): 1443-1467.

Galfi, A., M. Radinovic, D. Milanov, S. Bobos, M. Pajic, S. Savic, and I. Davidov. 2015. Electrical conductivity of milk and bacteriological findings in cows with subclinical mastitis. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 31(4): 533-541.

Guzel-Seydim, Z.B., J.T. Wyffels, A.K. Greene, and A.B. Bodine. 2000. Removal of dairy soil from heated stainless steel surfaces: use of ozonated water as a prerinse. *Journal of Dairy Science*. 83(8): 1887-1891.

Guzel-Seydim, Z.B., A.K. Greene, and A.C. Seydim. 2004. Use of ozone in the food industry. *LWT-Food Science and Technology*. 37(4):453-460.

Haifan, M. 2017. Review kajian aplikasi teknologi ozon untuk penanganan buah, sayuran dan hasil perikanan. *Jurnal IPTEK*. 1(1): 15-21.

Halliwell, B. 2001. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*. 18(9): 685-716.

Hamodah, S.E., R. Andoyo, E. Mardawati, and A.I. Ibrahim. 2019. A Review on Influence of Ozone and Pasteurization on physico-chemical properties, Microbiology, and stability of milk. *International Journal of Engineering Science Invention*. 8(1):10-15.

Harlia, E., I. Roostita, Balia dan D. Suryanto. 2014. Pengaruh suhu pemanasan terhadap kandungan residu antibiotik dalam air susu sapi. *Lokakarya nasional keamanan pangan produk peternakan*. Jurusan Teknologi Hasil Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Padjadjaran. 42-46.

Hsieh, M.K., C.L. Shyu, J.W. Liao, C.A. Franje, Y.J. Huang, S.K. Chang, P.Y. Shih, and C.C. Chou. 2011. Correlation analysis of heat stability of veterinary antibiotics by structural degradation, changes in antimicrobial activity and genotoxicity. *Vet Med-Czech*, 56: 274-285.

Hübler, M.M., S. Canonica, G. Park, and U. von Gunten. 2003. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environmental Science dan Technology*. 37(5): 1016–1024.



Huber, M.M., A. Gobel, A. Joss, N. Hermann, D. Löffler, C.S. McArdell, A. Ried, H. Siegrist, T.A. Ternes, and U. von Gunten. 2005. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: a pilot study. *Environmental Science dan Technology*. 39(11): 4290-4299.

Inal, M., A. Dokumacioglu, E. Ozcelik, and O. Ucar. 2011. The effects of ozone therapy and coenzyme Q₁₀ combination on oxidative stress markers in healthy subjects. *Irish Journal of Medical Science*. 180: 703-707.

Jyoti, K.K., and A.B. Pandit. 2004. Effect of civitation on chemical disinfection efficiency. *Water Research*. 38(9): 2248-2257.

Kasper, D.L., E. Braunwald, A.S. Fauci, S.L. Hauser, D.L. Longo, and J.L. Jameson. 2005. *Harrison's Manual of Medicine*, 16th Edition, Mc. Graw-Hill. New York.

Kellnerova, E., P. Navratilova, and I. Borkovcova. 2014. Effect of pasteurization on the residues of tetracyclines in milk. *Acta vet. Brno*, 83(10): 21-26.

Khaniki, G.R.J. 2007. Chemical contaminants in milk and public health concerns: A review. *Int. J. Dairy Sci*. 2(2): 104-115.

Kim, B.J. and J.G. Kim. 2013. Substitutions in penicillin-binding protein 1 in amoxicillin-resistant *Helicobacter pylori* strains isolated from Korean patients. *Gut Liver*. 7(6): 655-660.

Kunwar, A., and K.I. Priyadarsini. 2011. Free radical oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *J Med Allied Sci*. 1(2): 53-60.

Lenntech, B.V. 2018. Ozone disinfection mechanism. www.lenntech.com. Diakses pada 17 Oktober 2018.

Lowy, F. 1986. Penisilin dalam antibiotik dan infeksi. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta.

Lukman, D.W. 2010. Residu antibiotik dalam pangan asal hewan. www.higienepangan.blogspot.com. Diakses pada 18 Maret 2017.

Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 2000. *Brock Biology of Microorganisms*. 9th Edition. Prentice-Hall, London.

Mahdi, C. 2008. Efek paparan formaldehid dan suplementasi yoghurt terhadap aktivitas antioksidan, kerusakan oksidatif, profil dan karakter protein jaringan hepar tikus (*Rattus norvegicus*). Disertasi. Ilmu Kedokteran Bidang Minat Biomedik. Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang.

Mahdi, C., dan Aulanium. 2011. Suplementasi Yogurt pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Terpapar Formaldehid dalam Makanan terhadap Aktivitas Antioksidan Enzimatis Jaringan Hepar. *NATURAL B*. 1(2): 182-187.



Mahdi, C. 2016. Antioksidan, ROS dan Radikal Bebas, serta Dasar Imunologi. Jaya Mayantara. Malang.

Mahdi, C., H. Untari, and Padaga. 2017. Fermented goat milk supplementation in rats hypercholesterolemia on malonyldialdehyde and description of liver histopathology. *Indones. J. Cancer Chemoprevent.* 8(1): 1-8.

Metcalf and Eddy. 2003. Wastewater engineering treatment and reuse. 4th Edition. Mc Graw Hill. New York.

Meutia, N., T. Rizalsyah, S. Ridha, dan M.K. Sari. 2016. Residu Antibiotika Dalam Air Susu Segar yang Berasal Dari Peternakan di Wilayah Aceh Besar. *Jurnal Ilmu Ternak.* 16(1): 1-5.

Moore, D. 2018. Antibiotic classification and mechanism. www.orthobullets.com. Diakses pada 17 Oktober 2018.

Mucchelti, G., M. Galfi, and E. Neviani. 1994. Electrical conductivity changes in milk caused by acidification: Determining factors. *J. Dairy Sci.* 77(4): 940-944.

Muntikah, dan M. Razak. 2017. Ilmu Teknologi Pangan. Bahan Ajar. Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.

Murdiati. 1997. Teknik deteksi residu antibiotik dalam produk peternakan. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Balai Penelitian Veteriner. Bogor.

Nakada, N., H. Shinohara, A. Murata, K. Kiri, S. Managaki, N. Sato, and H. Takada. 2007. Removal of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) during sand filtration and ozonation at a municipal sewage treatment plant. *Water Research.* 41(19): 4373-4382.

Nurhayati, I.S., dan E. Martindah. 2015. Pengendalian mastitis subklinis melalui pemberian antibiotik saat periode kering pada sapi perah. *Wartazoa.* 25(2): 65-74.

Ogata, A., and H. Nagahata. 2000. Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.* 62(7): 681-686.

Ozone solutions. 2021. How an ozone generator works. www.ozonesolutions.com. Diakses pada 22 April 2021

Paar, A. 2017. Density measurement of milk and dairy products. www.theengineer.co.uk. Diakses pada 26 September 2020.



Patel, H.A., H. Singh, S.G. Anema, and L.K. Creamer. 2006. Effects of heat and high hydrostatic pressure treatments on disulfide bonding interchanges among the proteins in skim milk. *J. Agric. Food Chem.* 54(9): 3409-3420.

Pedras, M.M., C.R.G. Pinho, A.A.L. Tribst, M.A. Franchi, and M. Cristianini. 2012. The effect of high pressure homogenization on microorganisms in milk. *International Food Research Journal.* 19(1): 1-5.

Peratitus. 2003. *Ozone reaction kinetics for water and wastewater system.* A CRC-Press. London.

Pikatan, S. 2008. Ozon di atmosfer, erosi pada lapisan ozon mengancam kehidupan di permukaan bumi. Edisi Pertama. *Buletin Ilmiah Universitas Surabaya.* Surabaya.

Prihatinngtyas, E. 2006. Ozon Suatu Dilema. *Warta Limnologi.* No. 40. Oktober 2006.

Qian, F., J. Sun, D. Cao, Y.Tuo, S. Jiang, and G. Mu. 2017. Experimental and modelling study of the denaturation of milk protein by heat treatment. *Korean J. Food Sci. An.* 37(1): 44-51.

Quyen, V.T.K., C.N.D. Thanh, L.V. Phuc, V.T.D. Hien, N.N. Sang, T.T. Dai, and B.X. Thanh. 2016. Enhancement of antibiotic removal in membrane permeate by ozonation. *Journal of Water Sustainability.* 6(3): 89-98.

Ratya, N., E. Taufik, dan I.I. Arief. 2017. Karakteristik kimia, fisik dan mikrobiologis susu kambing peranakan etawa di Bogor. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan.* 5(1): 1-4.

Rice, R. G., and M.E. Browning. 1981. *Ozone treatment of industrial wastewater.* Noyes Data Corp.

Rusdi U.D., dan N. Suliasih. 2002. Ozonisasi dan kualitas air susu. *Jurnal Bionatura.* 4(2): 96-107.

Sari, A.P., dan W. Hadi. 2014. Penggunaan unit slow sand filter, ozon generator dan rapid sand filter skala rumah tangga untuk meningkatkan kualitas air sumur dangkal menjadi air layak minum (parameter zat organik dan deterjen). *Jurnal Teknik Pomits.* 3(2): 120-125.

Salvador, A., I. Abad, L. Arnal, and J.M.M. Javega. 1999. Effect of ozon on postharvest quality of persimmon. *J. Food Sci.* 71(6): 443-446.

Sertkol, C., A.M.K. Saribay, and B.Z. Cantekin. 2018. Recovery effect of intramammary ozone therapy for acute clinical mastitis in dairy cows. *F.U. Vet. J. Health Sci.* 32(3): 185-190.

Setyawati, E., dan D. Suprpto. 2017. Reducing losses of milk production. *Seminar of improving the income of small and medium scale farmers in*



oic member state through reducing losses of livestock production. Ministry of Agriculture. Jakarta.

Shahid, M., N. Sabir, I. Ahmed, R.W. Khan, M. Irshad, M. Rizwan, and S. Ahmed. 2011. Diagnosis of subclinical mastitis in bovine using conventional methods and electronic detector. *J. Agric. dan Biol. Sci.* 6(11): 18-22.

Sharif, A., and G. Muhammad. 2008. Somatic cell count as an indicator of udder health status under modern dairy production: a review. *Pakistan Vet. J.* 28(4): 194-200.

Sheelamary, M., and M. Muthukumar. 2011. Effectiveness of ozone in inactivating *Listeria monocytogenes* from milk samples. *World Journal of Young Researchers.* 1(3): 40-44.

Skog, J.L., and C.L. Chu. 2001. Effect of ozon on quality of fruits and vegetables in cold storage. *J Plant Sci.*, 81(4): 773-778.

Sudarwanto. 1990. Residu antibiotika dalam susu pasteurisasi ditinjau dari kesehatan masyarakat. Fakultas kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Sundari, D., Almasyhuri, dan A.Lamid. 2015. Pengaruh proses pemasakan terhadap komposisi zat gizi bahan pangan sumber protein. *Media Litbangkes.* 25(4): 235-242.

Sukmawati, N.M.S. 2014. Faktor-faktor yang mempengaruhi susunan dan keadaan air susu. Laboratorium Ilmu Ternak Perah. Fakultas Peternakan Universitas Udayana. Denpasar.

Suprpto, D. 2011. Buku informasi : mengelola kegiatan pengolahan hasil ternak. Badan Penyuluhan dan Pengembangan SDM Pertanian. Kementerian Pertanian RI. Jakarta.

Suprpto, D., and Z. Fanani. 2018. Reducing losses of milk production at KPBS Pengalengan–West Java (focused study on social and economical analysis). *Journal of Development Research.* 2(2): 43-48.

Tesfay, T., A. Kebede, and E. Seifu. 2017. Physico chemical properties of cow milk produced and marketed in Dire Dawa Town, Eastern Ethiopia. *Food Science and Quality Management.* 42: 56-61.

Tiwari, B. K., C.S. Brennan, T. Curran, E. Gallagher, P.J. Cullen, and C.P.O. Donnell. 2010. Application of ozone in grain processing. *Journal of Cereal Science.* 51(3): 248-255.

Torlak, E., and D. Sert. 2013. Inactivation of *Cronobacter* by gaseous ozone in milk powders with different fat contents. *International Dairy Journal.* 32(2): 121-125.



Typas, A., M. Banzhaf., and C.A. Gross. 2012. From the regulation of peptidoglycan synthesis to bacterial growth and morphology. *Nat Rev Microbiol.* 10(2):123-136.

Utami, K.B., L.E. Radiati dan P. Surjowardojo. 2014. Kajian kualitas susu sapi perah PFH (studi kasus pada anggota Koperasi Agro Niaga di Kecamatan Jabung Kabupaten Malang). *Jurnal- Jurnal Ilmu Peternakan*, 24(2): 58-66.

Varga, L., and J. Szigeti. 2016. Use of ozone in the dairy industry: A review: *International Journal of Dairy Technology*, 69(2): 157-168.

Vasbinder, A. J., A.C. Alting, and K.G. de Kruif. 2003. Quantification of heat-induced casein-whey protein interactions in milk and its relation to gelation kinetics. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 31(1): 115-123.

Vollmer, W. D. Blanot., and M.A. de Pedro. 2008. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev.* 32(2): 149-167.

Walsh, C. 2000. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*. 406(6797): 775-801.

Winarno, F.G. 2002. Kimia pangan dan gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Wulandari, E., I. Suryaningsih, A. Pratama, D.S. Putra, dan N. Runtini. 2016. Karakteristik fisik, kimia dan nilai kesukaan *nugget* ayam dengan penambahan pasta tomat. *Jurnal Ilmu Ternak*. 16(2): 95-99.

Young, S.B., and P. Setlow. 2004. Mechanisms of *Bacillus subtilis* spore resistance to and killing by aqueous ozone. *Journal of Applied Microbiology*. 96(5): 1133-1142.

Yuningsih. 2004. Keberadaan residu antibiotik dalam produk peternakan (susu dan daging). Lokakarya Nasional keamanan Pangan Produk Peternakan. Balai Penelitian Veteriner. Bogor. 48-55.

Zheng, J., C. Su, J. Zhou, L. Xu, Y. Qian, and H. Chen. 2017. Effects and mechanisms of ultraviolet, chlorination, and ozone disinfection on antibiotic resistance genes in secondary effluents of municipal wastewater treatment plants. *Chemical Engineering Journal*. 317: 309-316.

Zorraquino, M.A., R.L. Althaus, M. Roca, and M.P. Molina. 2011. Heat treatment effects on the antimicrobial activity of macrolide and lincosamide antibiotics in milk. *Journal of food protection*, 74(2): 311-315.



Lampiran 1. Prosedur pengujian kualitas susu segar menggunakan *Lactoscan* MCC (Anonimus, 2015)

- Sambung *Lactoscan* MCC dengan sumber listrik
- Tekan power pada posisi [on]
- Setelah display menyala, tekan tombol [ENTER] dan tahan selama 5 detik
- Arahkan kursor ke arah “cleaning” dengan menekan tombol [▼] lalu tekan [ENTER]. Pastikan deterjen dan air pembersih sudah terpasang pada pipa pencucian. Tunggu hingga pencucian selesai dan muncul tulisan “getting ready, ready to start”
- Tekan [ENTER] dan tahan selama 5 detik untuk memunculkan mode selector.
- Pilih “Cow” untuk sampel susu sapi
- Siapkan sampel sebanyak 10 ml dan letakkan pada pipa penghisap sampel lalu tekan [ENTER]
- Tunggu selama 50 detik, hasil analisis kualitas susu segar akan muncul di layar display dan tercetak pada printer. Prinsip kerja alat ini adalah membaca gelombang bunyi ultrasonik pada sampel susu yang masuk ke dalam alat, setelah sampel terbaca oleh sensor pada alat, maka alarm akan berbunyi.
- Catat hasilnya
- Selesai menggunakan lakukan *final cleaning* dan *shutdown*



Lampiran 2. Prosedur pengujian *electrical conductiivty* (Galfi *et al.*, 2015)

- Nyalakan power hingga muncul tanda (- -) pada *display*
- Masukkan sampel dimasukkan sebanyak 5 mL ke dalam mangkuk
- Tekan [ENTER]
- Catat angka yang muncul pada *display*
- Lakukan pembacaan hasil dengan mengacu pada tabel berikut:

Pembacaan Hasil	Indikator Penilaian
Diatas 300 unit	Sampel susu berkualitas tinggi dan sehat. Kejadian mastitis sub klinis sangat rendah
Antara 250 – 300 unit	Sampel susu terindikasi mastitis sub klinis. Penurunan angka pembacaan hasil menunjukkan kejadian infeksi sub klinis yang semakin meningkat
Dibawah 250 unit	Sampel susu terindikasi mengalami infeksi yang sangat cepat dari mastitis subklinis menjadi klinis. Ini ditandai dengan jumlah sel somatik yang meningkat menjadi dari satu juta



Lampiran 3. Prosedur pengujian *total plate count* (BSN, 2006)

Preparasi Sampel

- Timbang sampel secara aseptis sebanyak 25 g kemudian masukkan ke dalam wadah plastik steril. Tambahkan 225 ml larutan buffer fosfat
- Homogenkan menggunakan *Stomacher* selama 2 menit. Homogenat ini merupakan larutan pengenceran 10^{-1}
- Dengan menggunakan pipet steril, ambil 1 ml homogenat di atas dan masukkan ke dalam tabung yang berisi 9 ml larutan *buffer fosfat* untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} .
- Siapkan pengenceran selanjutnya (10^{-3}) dengan mengambil 1 ml contoh dari pengenceran 10^{-2} ke dalam 9 ml *buffer fosfat*. Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan minimal 25 kali.
- Selanjutnya lakukan hal yang sama untuk pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan seterusnya sesuai kondisi contoh

Inokulasi

- Pipet 1 ml dari setiap pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dst dan masukkan ke dalam cawan petri steril. Lakukan secara duplo untuk setiap pengenceran
- Tambahkan 12 – 15 ml *Plate Count Agar* (PCA) yang sudah didinginkan dalam *waterbath* hingga mencapai suhu 45 ± 1 °C ke dalam masing-masing cawan yang sudah berisi contoh. Supaya contoh dan media PCA tercampur sempurna lakukan pemutaran cawan ke depan ke belakang dan ke kiri dan ke kanan. Untuk pengujian bakteri Termofilik, penamabahan media PCA ke dalam cawan sebanyak 40 – 50 ml



- Setelah agar menjadi padat, untuk penentuan mikroba aerob inkubasi cawan-cawan tersebut dalam posisi terbalik dalam inkubator selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu 35 °C (Mesofilik.)

- Lakukan kontrol tanpa contoh dengan mencampur larutan pengencer dengan media PCA

Penghitungan Koloni

- Cawan yang mengandung jumlah 25 – 250 koloni dan bebas spreader
- Catat pengenceran yang digunakan dan hitung jumlah total koloni. Perhitungan *Total Plate Count* sebagai berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Dengan :

N : jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per gram

$\sum C$: jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 : jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 : jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d : pengenceran pertama yang dihitung

Lampiran 4. Prosedur pengujian *malondialdehyde* (Mahdi et al., 2017)

- Buat kurva standar MDA:
 - ✓ Komposisi positif (+) terbuat dari sampel susu sebanyak 200 μ L yang ditambahkan TCA 10% sebanyak 10 mL, HCL 1 N 200 μ L dan Na-*Thiobarbituric* 10% sebanyak 200 μ L
 - ✓ Komposisi negatif (-) terbuat dari sampel susu sebanyak 200 μ L yang ditambahkan TCA 10% sebanyak 10 mL, HCL 1 N 200 μ L (tanpa Na-*Thiobarbituric*, 10%)
- Panaskan larutan menggunakan *waterbath* pada suhu 105 °C selama 25 menit dan didinginkan hingga mencapai suhu 40 °C
- Lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan disaring kemudian ditambahkan aquabides
- Absorbansi supernatan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (532 nm)
- Plot pada kurva standar yang untuk menghitung konsentrasi MDA



Lampiran 5. Prosedur analisa residu antibiotik secara kualitatif (BSN, 2008)

- Cairkan media agar yang telah dibuat dengan pemanasan, kemudian letakkan pada penangas air (water bath) hingga temperatur mencapai $55^{\circ}\text{C} + 1^{\circ}\text{C}$.
- Pipet Media agar tersebut dipindahkan kedalam botol roux's sebanyak 100 mL.
- Pipet 1 mL biakan kuman uji atau spora dan campurkan ke dalam 100 mL media yang telah dicairkan hingga merata (khusus untuk media agar *G. stearothermophilus* : pipet biakan spora, dan tambahkan 2,5% larutan dextrose 2%, kemudian campurkan ke dalam 100 ml media yang telah dicairkan hingga merata).
- Kemudian pipet 8 ml media yang telah mengandung kuman uji atau spora kedalam setiap cawan Petri sesuai dengan jenis golongan antibiotika yang akan diuji.
- Setiap jenis golongan antibiotika menggunakan minimal 3 cawan Petri (triplo).
- Tempatkan cawan Petri pada bidang yang datar sampai media membeku
- Teteskan terlebih dahulu masing-masing larutan contoh yang telah disiapkan ke dalam kertas cakram atau yang sejenis sebanyak 75 μL (dia.8 mm) atau 100 μL (dia.10 mm) dan biarkan sampai menyerap seluruhnya pada media dalam cawan Petri. Teteskan juga larutan baku pembanding sebagai control positif dan larutan dapar sebagai control negatif. Teteskan juga *enzim penicillinase* kedalam larutan contoh dan



larutan baku pembanding untuk golongan penicillina terhadap 1 cawan petri.

- Tempatkan masing-masing cawan petri pada bidang yang datar dalam ruangan dengan temperatur kamar selama 1 jam.
- Inkubasikan dalam inkubator selama 16 sampai 18 jam untuk golongan makrolida dan aminoglikosida pada temperatur $36^{\circ}\text{C} + 1^{\circ}\text{C}$, golongan tetrasiklin pada temperatur $30^{\circ}\text{C} + 1^{\circ}\text{C}$, dan golongan penisilin pada temperatur $55^{\circ}\text{C} + 1^{\circ}\text{C}$.
- Cara menyatakan hasil:
 - ✓ Amati dan ukur diameter daerah hambatan yang terbentuk di sekeliling kertas cakram atau yang sejenis dengan menggunakan alat ukur yang sesuai.
 - ✓ Kontrol positif harus membentuk daerah hambatan dari tepi kertas cakram atau yang sejenis.
 - ✓ Kontrol negatif harus tidak membentuk daerah hambatan.
 - ✓ Diameter hambatan yang terbentuk pada contoh sebaiknya berada dalam kisaran / range kurva baku, apabila diameter hambatan yang terbentuk melebihi nilai kurva baku maka contoh harus diencerkan.
 - ✓ Khusus untuk golongan penisilina, contoh dinyatakan positif apabila pada plate yang ditetesi larutan enzim *penicillinase* tidak membentuk daerah hambatan.



Lampiran 6. Prosedur analisa residu antibiotik penisilin secara kuantitatif (Ball, 2009)

- Cara kerja

Pengujian selalu disertai dengan kontrol positif (5 gram contoh yang ditambah larutan standar (baku) pembanding dengan konsentrasi 10 µg/mL sebanyak 75 µL, sehingga dihasilkan konsentrasi akhir 0.15 µg/gram atau 0.15 µg/mL)

- Pembuatan larutan pereaksi/pelarut

- ✓ Larutan fase gerak

Campur Acetonitril LC grade dalam Ammonium asetat 0.01 M dengan perbandingan 80:20, kemudian saring dengan menggunakan filter PTFE, lakukan sonifikasi dengan menggunakan *ultrasonic bath* untuk menghilangkan gas dan udara (*degassing*).

- ✓ Pembuatan larutan standar /baku

Larutan stok standar Penisilin G Sodium dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Timbang 10 mg standar pembanding Penisilin G sodium, kemudian dilarutkan dalam Aquades dan tepatkan sampai 10 mL.

- ✓ Larutan standar kerja

Pipet sebanyak 100 µL larutan 4.1.2.1, kemudian tambahkan larutan 4.1.1 dan tepatkan sampai 10 mL, sehingga diperoleh konsentrat 10 µg/mL.

- ✓ Larutan untuk kurva standar

a. Pipet 1 mL larutan 4.1.2.2 ke dalam labu ukur, tambahkan larutan 4.1.1 dan tepatkan sampai volume 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1 µg/mL



b. Pipet 500 μ L larutan 4.1.2.3.a ke dalam labu ukur, tambahkan larutan 4.1.1 dan tepatkan sampai volume 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0.50 μ g/mL

c. Pipet 5 mL larutan 4.1.2.3.a ke dalam labu ukur, tambahkan larutan 4.1.1 dan tepatkan sampai volume 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0.25 μ g/mL

d. Pipet 5 mL larutan 4.1.2.3.a ke dalam labu ukur, tambahkan larutan 4.1.1 dan tepatkan sampai volume 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0.125 μ g/mL

e. Pipet 5 mL larutan 4.1.2.2 ke dalam labu ukur, tambahkan larutan 4.1.1 dan tepatkan sampai volume 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0.0625 μ g/mL

f. Pipet 5 mL larutan 4.1.2.2 ke dalam labu ukur, tambahkan larutan 4.1.1 dan tepatkan sampai volume 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0.03125 μ g/mL

- Prosedur ekstraksi contoh

a. Timbang 5 gram contoh padat/semi padat yang telah dihomogenkan dengan *homogenizer*, untuk contoh cair kocok dahulu kemudian pipet 5 mL, masukkan ke dalam tabung sentrifuge bertutup 50 mL.

b. Tambahkan 15 mL asetonitril p.a : DW (15:2) dan kocok dengan *vortex mixer* selama 2 menit.

c. Sentrifus dengan kecepatan 4.000 rpm selama 5 menit, pisahkan supernatan dari endapan. (supernatan masukkan dalam labu evaporator)



d. Tambahkan 15 mL asetonitril p.a : DW (15:2) kedalam endapan 4.2.c

dan kocok dengan *vortex mixer* selama 2 menit.

e. Sentrifus dengan kecepatan 4.000 rpm selama 5 menit, pisahkan

supernatan dari endapan dan gabungkan supernatan ini dengan supernatan 4.2.c.

f. Evaporasi pada suhu 37 °C, sampai acetonitril habis. (atau sampai kering)

g. Tambahkan buffer fosfat pH 8.5, sampai 20 mL, saring dengan kertas dia. 0.45 mm

h. Masukkan 10 mL kedalam kolom SPE cartridge C18, yang sudah diaktivasi, dan biarkan sampai kering (kolom divakum)

i. Cuci dengan 2 mL aquades, 2 mL dafar fosfat pH 8.5, dan biarkan kolom kering (kolom divakum)

j. Elusi kolom dengan 3 mL asetonitril, dan tampung dalam labu evaporator

k. Evaporasi sampai kering

l. Tambahkan 1 mL larutan Fase gerak, ultrasonic (sonikator) 1 menit, kemudian saring dengan filter acrodish (0,45 µm, 13 mm) dan masukkan dalam vial HPLC. Larutan siap diinjeksikan ke KCKT.

- Residu golongan penisilin dipisahkan dari matrik contoh, dimurnikan, kemudian diidentifikasi dan diukur pada HPLC dengan kolom fase terbalik C-18 menggunakan detector UV pada panjang gelombang 220 nm dengan kecepatan alir 0.7 ml/menit.

- Pengujian selalu disertai dengan kontrol positif (5 gram contoh yang ditambah larutan standar (baku) pembanding dengan konsentrasi 10



$\mu\text{g/mL}$ sebanyak $75 \mu\text{L}$, sehingga dihasilkan konsentrasi akhir 0.15

$\mu\text{g/gram}$ atau $0.15 \mu\text{g/mL}$.

- Pembacaan hasil *HPLC* dilakukan dengan pengamatan terhadap kurva pada kromatogram. Adanya kurva dengan waktu tambat yang sama dengan waktu tambat standar menunjukkan adanya residu penisilin (PC) pada sampel. Apabila area yang dihasilkan dari sampel melebihi area kurva kalibrasi, maka ekstrak dapat diencerkan sampai diperoleh area dalam rentang kurva kalibrasi.

- Kadar residu penisilin (PC) dihitung menggunakan persamaan garis:

$$y = a + bx, \text{ dengan perincian :}$$

y : area contoh

a : *intercept*

b : *slope*

$X \times V_s$

$$\text{Kadar residu } (\mu\text{g/gram atau } \mu\text{g/mL}) = \frac{\text{---}}{B}$$

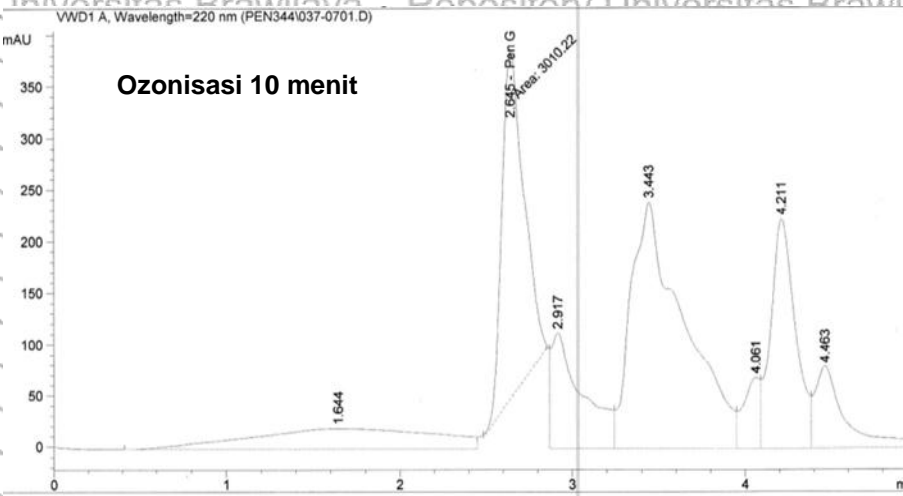
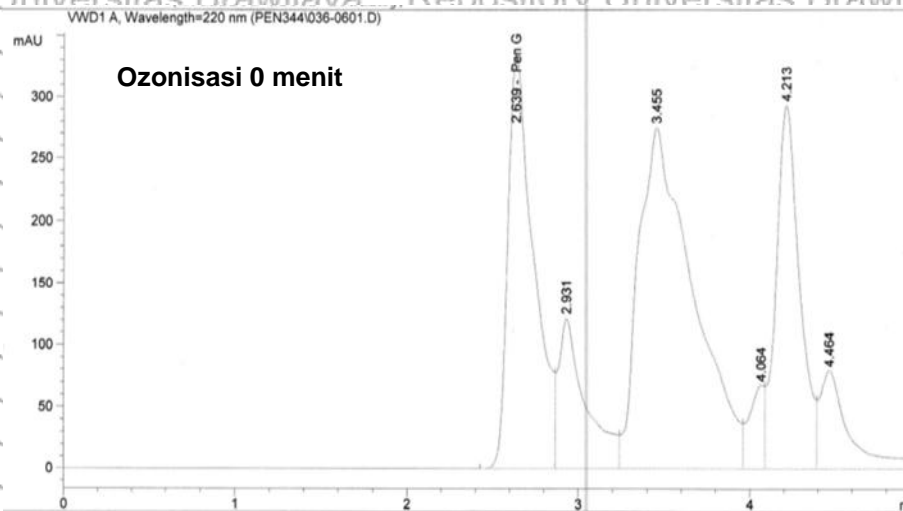
Keterangan :

X : Konsentrasi residu dalam contoh hasil integrasi kurva ($\mu\text{g/gram}$ atau $\mu\text{g/mL}$)

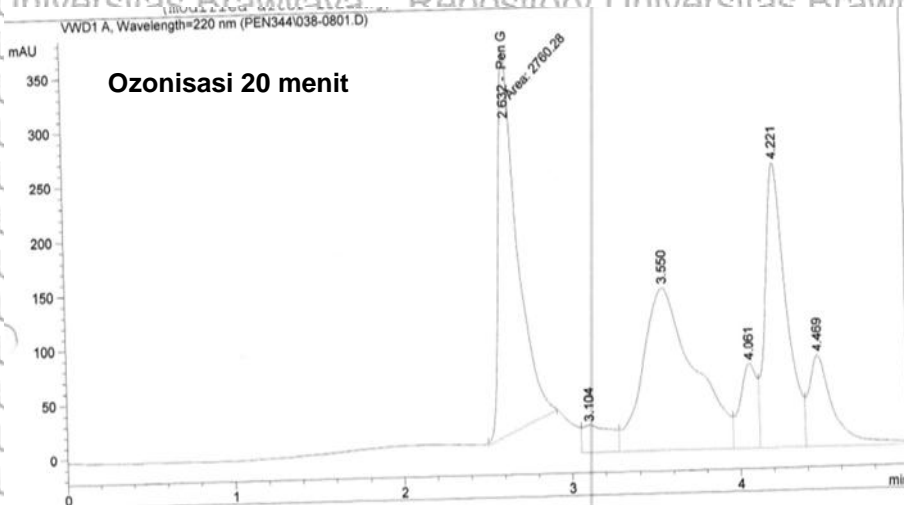
V_s : Volume akhir sebelum injeksi (mL)

B : Berat contoh (gram) atau volume contoh (mL)

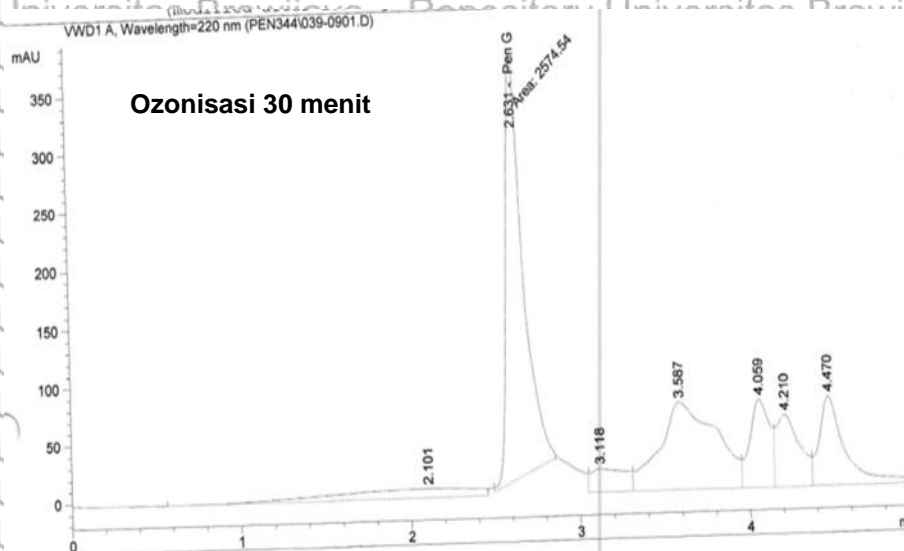
Lampiran 7. Kurva kromatogram HPLC/UV pada residu penisilin dengan perlakuan ozonisasi



Ozonisasi 20 menit



Ozonisasi 30 menit





Lampiran 8. Rata-rata berat jenis susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (g/mL)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	1,0284	1,0290	1,0282	3,0856	1,0285
2	10 menit	1,0278	1,0286	1,0277	3,0841	1,0280
3	20 menit	1,0281	1,0287	1,0279	3,0847	1,0282
4	30 menit	1,0285	1,0291	1,0289	3,0865	1,0288

Lampiran 9. Hasil analisis statistik berat jenis susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (g/mL)

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	1,028533	,0004163	,0002404	1,027499	1,029568	1,0282	1,0290
10	3	1,028033	,0004933	,0002848	1,026808	1,029259	1,0277	1,0286
20	3	1,028233	,0004163	,0002404	1,027199	1,029268	1,0279	1,0287
30	3	1,028833	,0003055	,0001764	1,028074	1,029592	1,0285	1,0291
Total	12	1,028408	,0004738	,0001368	1,028107	1,028709	1,0277	1,0291

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,466	3	8	,714

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	3	,000	2,151	,172
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,000	11			

Post Hoc Tests

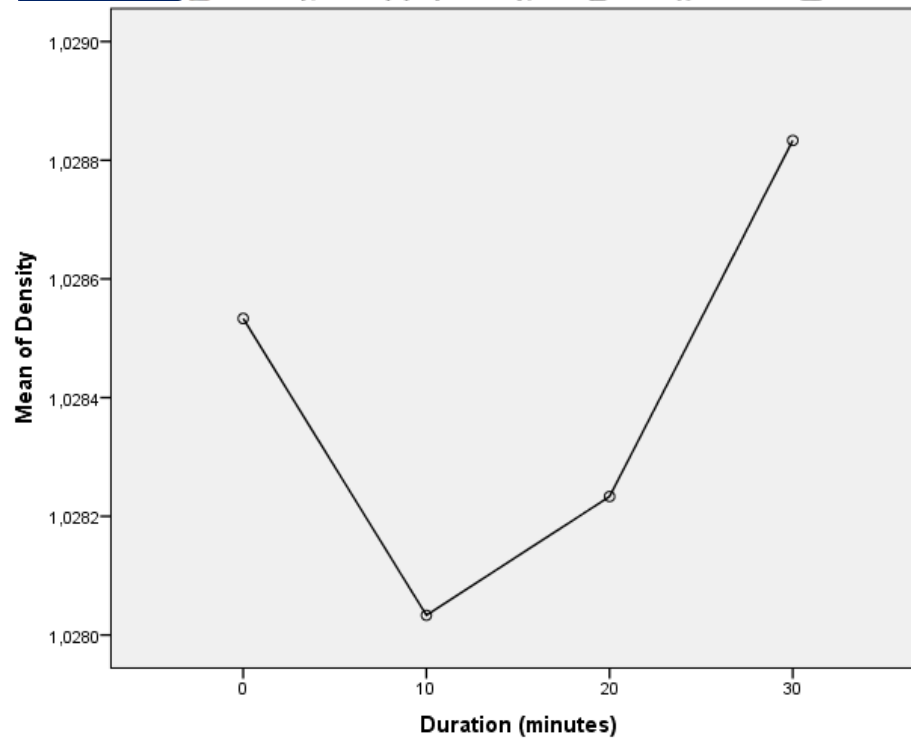
Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			(I-J)			Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	,0005000	,0003375	1,000	-,000674	,001674
		20	,0003000	,0003375	1,000	-,000874	,001474
		30	-,0003000	,0003375	1,000	-,001474	,000874
	10	0	-,0005000	,0003375	1,000	-,001674	,000674
		20	-,0002000	,0003375	1,000	-,001374	,000974
		30	-,0008000	,0003375	,271	-,001974	,000374
	20	0	-,0003000	,0003375	1,000	-,001474	,000874
		10	,0002000	,0003375	1,000	-,000974	,001374
		30	-,0006000	,0003375	,680	-,001774	,000574
	30	0	,0003000	,0003375	1,000	-,000874	,001474
		10	,0008000	,0003375	,271	-,000374	,001974
		20	,0006000	,0003375	,680	-,000574	,001774
Games-Howell	0	10	,0005000	,0003727	,589	-,001039	,002039
		20	,0003000	,0003399	,815	-,001084	,001684
		30	-,0003000	,0002981	,756	-,001570	,000970
	10	0	-,0005000	,0003727	,589	-,002039	,001039
		20	-,0002000	,0003727	,945	-,001739	,001339
		30	-,0008000	,0003350	,244	-,002308	,000708
	20	0	-,0003000	,0003399	,815	-,001684	,001084

		10	,0002000	,0003727	,945	-,001339	,001739
		30	-,0006000	,0002981	,327	-,001870	,000670
	30	0	,0003000	,0002981	,756	-,000970	,001570
		10	,0008000	,0003350	,244	-,000708	,002308
		20	,0006000	,0002981	,327	-,000670	,001870

Homogeneous Subsets

Equal Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	0	3	1,028033
	10	3	1,028233
	20	3	1,028533
	30	3	1,028833
	Sig.		,057
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.			

Means Plots





Lampiran 10. Rata-rata kadar protein susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	3,38	3,42	3,37	10,17	3,39
2	10 menit	3,35	3,39	3,40	10,14	3,38
3	20 menit	3,36	3,40	3,43	10,19	3,40
4	30 menit	3,39	3,43	3,38	10,20	3,40

Lampiran 11. Hasil analisis statistik kadar protein susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

Oneway


Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	3,3900	,02646	,01528	3,3243	3,4557	3,37	3,42
10	3	3,3800	,02646	,01528	3,3143	3,4457	3,35	3,40
20	3	3,3967	,03512	,02028	3,3094	3,4839	3,36	3,43
30	3	3,4000	,02646	,01528	3,3343	3,4657	3,38	3,43
Total	12	3,3917	,02588	,00747	3,3752	3,4081	3,35	3,43

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,093	3	8	,962

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,001	3	,000	,280	,838
Within Groups	,007	8	,001		
Total	,000	11			

Post Hoc Tests

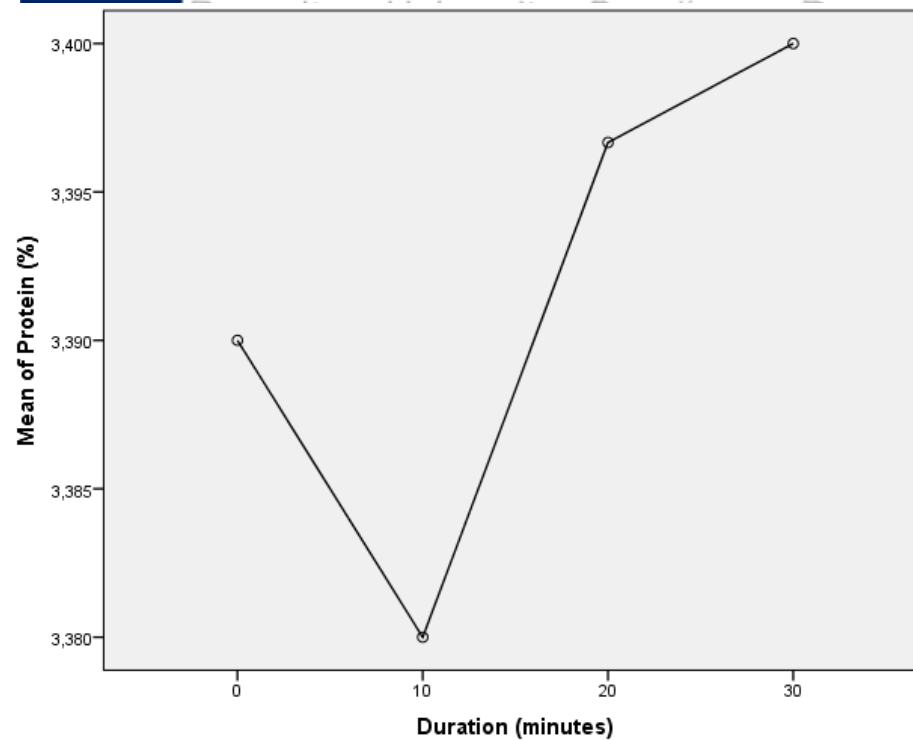
Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	,01000	,02357	,1000	-,0720	,0920
		20	-,00667	,02357	,1000	-,0887	,0753
		30	-,01000	,02357	,1000	-,0920	,0720
	10	0	-,01000	,02357	,1000	-,0920	,0720
		20	-,01667	,02357	,1000	-,0987	,0653
		30	-,02000	,02357	,1000	-,1020	,0620
	20	0	-,00667	,02357	,1000	-,0753	,0887
		10	-,01667	,02357	,1000	-,0653	,0987
		30	-,00333	,02357	,1000	-,0853	,0787
	30	0	-,01000	,02357	,1000	-,0720	,0920
		10	-,02000	,02357	,1000	-,0620	,1020
		20	-,00333	,02357	,1000	-,0787	,0853
Games-Howell	0	10	-,01000	,02160	,963	-,0779	,0979
		20	-,00667	,02539	,993	-,1140	,1007
		30	-,01000	,02160	,963	-,0979	,0779
	10	0	-,01000	,02160	,963	-,0979	,0779
		20	-,01667	,02539	,908	-,1240	,0907
		30	-,02000	,02160	,795	-,1079	,0679
	20	0	-,00667	,02539	,993	-,1007	,1140

	30	10	,01667	,02539	,908	-,0907	,1240
		30	-,00333	,02539	,999	-,1107	,1040
		0	,01000	,02160	,963	-,0779	,0979
		10	,02000	,02160	,795	-,0679	,1079
		20	,00333	,02539	,999	-,1040	,1107

Homogeneous Subsets

Equal Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	0	3	3,3800
	10	3	3,3900
	20	3	3,3967
	30	3	3,4000
	Sig.		,446
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.			

Means Plots





Lampiran 12. Rata-rata kadar lemak susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	4,80	4,50	3,90	13,20	4,40
2	10 menit	4,88	4,46	3,97	13,31	4,44
3	20 menit	4,90	4,62	3,96	13,48	4,49
4	30 menit	4,95	4,72	4,05	13,72	4,57

Lampiran 13. Hasil analisis statistik kadar lemak susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	4,4000	,45826	,26458	3,2616	5,5384	3,90	4,80
10	3	4,4367	,45545	,26295	3,3053	5,5681	3,97	4,88
20	3	4,4933	,48263	,27865	3,2944	5,6923	3,96	4,90
30	3	4,5733	,46758	,26996	3,4118	5,7349	4,05	4,95
Total	12	4,4758	,40331	,11643	4,2196	4,7321	3,90	4,95

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,025	3	8	,994

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,051	3	,017	,079	,970
Within Groups	1,738	8	,217		
Total	1,789	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	-,03667	,38057	1,000	-1,3606	1,2873
		20	-,09333	,38057	1,000	-1,4173	1,2306
		30	-,17333	,38057	1,000	-1,4973	1,1506
	10	0	,03667	,38057	1,000	-1,2873	1,3606
		20	-,05667	,38057	1,000	-1,3806	1,2673
		30	-,13667	,38057	1,000	-1,4606	1,1873
	20	0	,09333	,38057	1,000	-1,2306	1,4173
		10	,05667	,38057	1,000	-1,2673	1,3806
		30	-,08000	,38057	1,000	-1,4040	1,2440
	30	0	,17333	,38057	1,000	-1,1506	1,4973
		10	,13667	,38057	1,000	-1,1873	1,4606
		20	,08000	,38057	1,000	-1,2440	1,4040
Games-Howell	0	10	-,03667	,37302	1,000	-1,5552	1,4819
		20	-,09333	,38425	,994	-1,6596	1,4730
		30	-,17333	,37799	,964	-1,7124	1,3657
	10	0	,03667	,37302	1,000	-1,4819	1,5552
		20	-,05667	,38313	,999	-1,6189	1,5056
		30	-,13667	,37686	,981	-1,6713	1,3980

	20	0	,09333	,38425	,994	-1,4730	1,6596
		10	,05667	,38313	,999	-1,5056	1,6189
		30	-,08000	,38797	,996	-1,6602	1,5002
	30	0	,17333	,37799	,964	-1,3657	1,7124
		10	,13667	,37686	,981	-1,3980	1,6713
		20	,08000	,38797	,996	-1,5002	1,6602

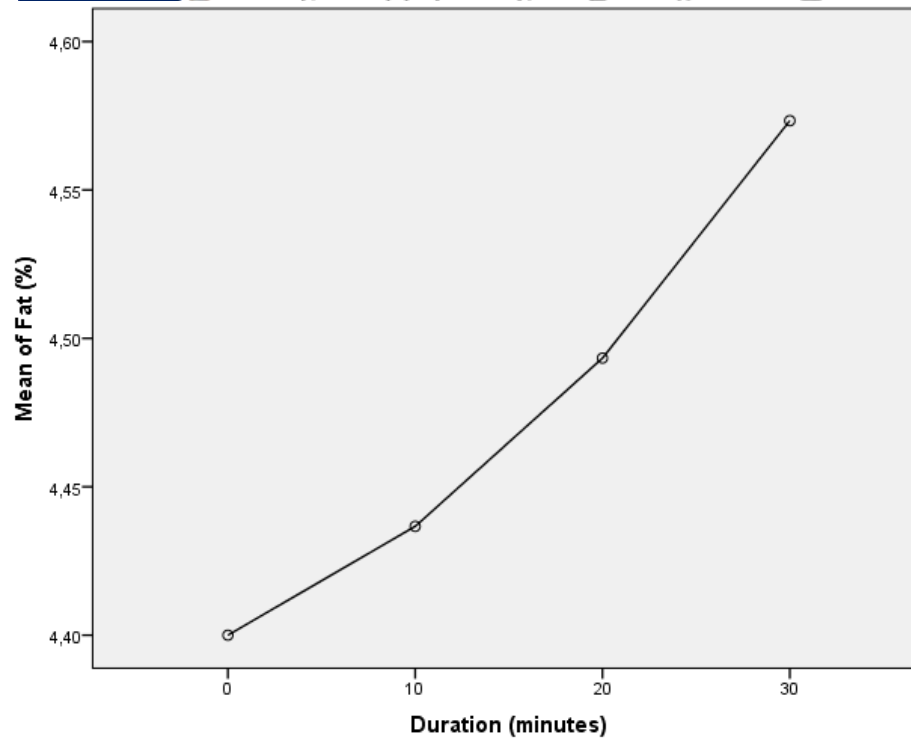
Homogeneous Subsets

Equal Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	0	3	4,4000
	10	3	4,4367
	20	3	4,4933
	30	3	4,5733
	Sig.		,678

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Means Plots





Lampiran 14. Rata-rata *electrical conductivity* susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	370	380	380	1160	386,6667
2	10 menit	370	370	390	1200	400,0000
3	20 menit	380	390	390	1130	376,6667
4	30 menit	400	390	410	1130	376,6667

Lampiran 15. Hasil analisis statistik pengaruh perbedaan durasi waktu ozonisasi terhadap rata-rata *electrical conductivity* susu segar

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	376,6667	5,77350	3,33333	362,3245	391,0088	370,00	380,00
10	3	376,6667	11,54701	6,66667	347,9823	405,3510	370,00	390,00
20	3	386,6667	5,77350	3,33333	372,3245	401,0088	380,00	390,00
30	3	400,0000	10,00000	5,77350	375,1586	424,8414	390,00	410,00
Total	12	385,0000	12,43163	3,58870	377,1013	392,8987	370,00	410,00

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,978	3	8	,450

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1100,000	3	366,667	4,889	,032
Within Groups	600,000	8	75,000		
Total	1700,000	11			

Post Hoc Tests

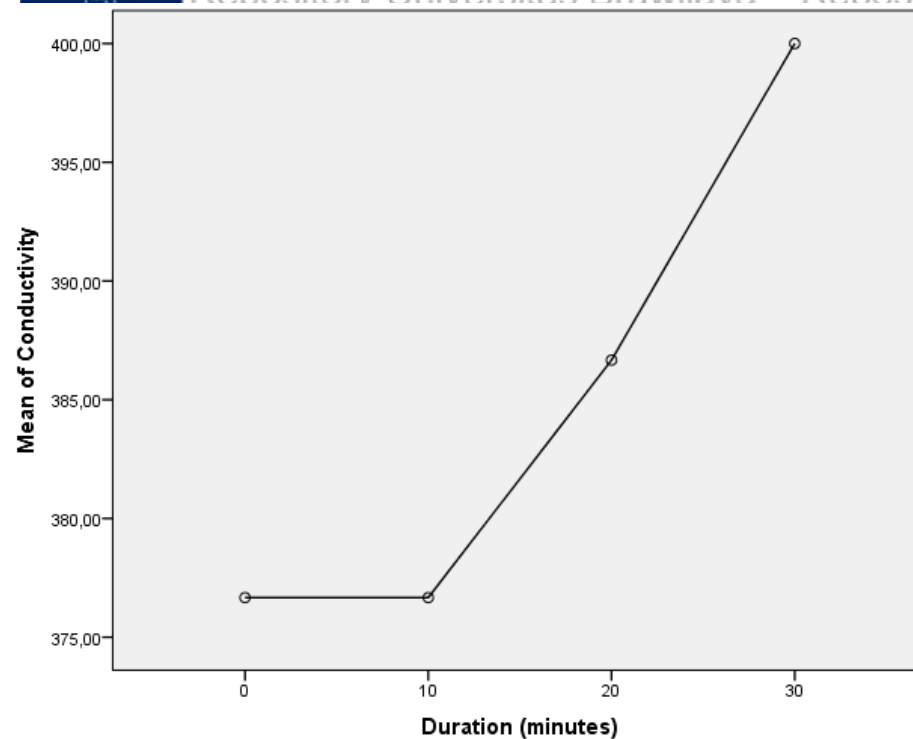
Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	,00000	7,07107	1,000	-24,5994	24,5994
		20	-10,00000	7,07107	1,000	-34,5994	14,5994
		30	-23,33333	7,07107	,065	-47,9327	1,2661
	10	0	,00000	7,07107	1,000	-24,5994	24,5994
		20	-10,00000	7,07107	1,000	-34,5994	14,5994
		30	-23,33333	7,07107	,065	-47,9327	1,2661
	20	0	10,00000	7,07107	1,000	-14,5994	34,5994
		10	10,00000	7,07107	1,000	-14,5994	34,5994
		30	-13,33333	7,07107	,576	-37,9327	11,2661
	30	0	23,33333	7,07107	,065	-1,2661	47,9327
		10	23,33333	7,07107	,065	-1,2661	47,9327
		20	13,33333	7,07107	,576	-11,2661	37,9327
Games-Howell	0	10	,00000	7,45356	1,000	-36,4732	36,4732
		20	-10,00000	4,71405	,286	-29,1902	9,1902
		30	-23,33333	6,66667	,104	-54,1430	7,4763
	10	0	,00000	7,45356	1,000	-36,4732	36,4732
		20	-10,00000	7,45356	,602	-46,4732	26,4732
		30	-23,33333	8,81917	,175	-59,6026	12,9359

	20	0	10,00000	4,71405	,286	-9,1902	29,1902
		10	10,00000	7,45356	,602	-26,4732	46,4732
		30	-13,33333	6,66667	,346	-44,1430	17,4763
	30	0	23,33333	6,66667	,104	-7,4763	54,1430
		10	23,33333	8,81917	,175	-12,9359	59,6026
		20	13,33333	6,66667	,346	-17,4763	44,1430

Homogeneous Subsets

Equal Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	0	3	376,6667	
	10	3	376,6667	
	20	3	386,6667	386,6667
	30	3		400,0000
	Sig.		,212	,096
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.				

Means Plots



Lampiran 16. Rata-rata *total plate count* susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (CFU/mL)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	140.000	150.000	170.000	460.000	153.333
2	10 menit	110.000	140.000	140.000	390.000	130.000
3	20 menit	130.000	140.000	110.000	380.000	126.667
4	30 menit	100.000	120.000	90.000	310.000	103.333

Lampiran 17. Hasil analisis statistik pengaruh perbedaan durasi waktu ozonisasi terhadap rata-rata *total plate count* susu segar (%)

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	153333,33	15275,252	8819,171	115387,50	191279,16	140000	170000
10	3	130000,00	17320,508	10000,000	86973,47	173026,53	110000	140000
20	3	126666,67	15275,252	8819,171	88720,84	164612,50	110000	140000
30	3	103333,33	15275,252	8819,171	65387,50	141279,16	90000	120000
Total	12	128333,33	22896,341	6609,604	113785,69	142880,97	90000	170000

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,083	3	8	,967

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3766666667,000	3	1255555556,000	5,022	,030
Within Groups	2000000000,000	8	250000000,000		
Total	5766666667,000	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	23333,333	12909,944	,650	-21578,80	68245,47
		20	26666,667	12909,944	,436	-18245,47	71578,80
		30	50000,000 [*]	12909,944	,028	5087,86	94912,14
	10	0	-23333,333	12909,944	,650	-68245,47	21578,80
		20	3333,333	12909,944	1,000	-41578,80	48245,47
		30	26666,667	12909,944	,436	-18245,47	71578,80
	20	0	-26666,667	12909,944	,436	-71578,80	18245,47
		10	-3333,333	12909,944	1,000	-48245,47	41578,80
		30	23333,333	12909,944	,650	-21578,80	68245,47
	30	0	-50000,000 [*]	12909,944	,028	-94912,14	-5087,86
		10	-26666,667	12909,944	,436	-71578,80	18245,47
		20	-23333,333	12909,944	,650	-68245,47	21578,80
Games-Howell	0	10	23333,333	13333,333	,410	-31369,72	78036,38
		20	26666,667	12472,191	,282	-24105,83	77439,17
		30	50000,000	12472,191	,053	-772,50	100772,50
	10	0	-23333,333	13333,333	,410	-78036,38	31369,72
		20	3333,333	13333,333	,994	-51369,72	58036,38
		30	26666,667	13333,333	,324	-28036,38	81369,72

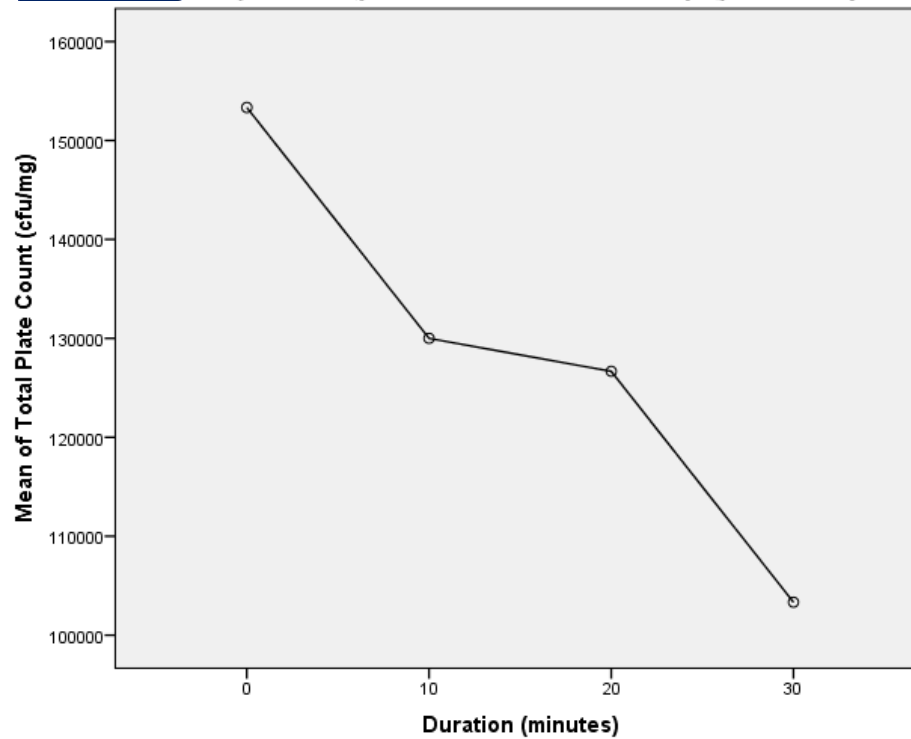
	20	0	-26666,667	12472,191	,282	-77439,17	24105,83
		10	-3333,333	13333,333	,994	-58036,38	51369,72
		30	23333,333	12472,191	,364	-27439,17	74105,83
	30	0	-50000,000	12472,191	,053	-100772,50	772,50
		10	-26666,667	13333,333	,324	-81369,72	28036,38
		20	-23333,333	12472,191	,364	-74105,83	27439,17

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Total Plate Count (cfu/mg)				
Equal Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	30	3	103333,33	
	20	3	126666,67	126666,67
	10	3	130000,00	130000,00
	0	3		153333,33
	Sig.		,083	,083
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.				

Means Plots





Lampiran 18. Rata-rata produksi *malodialdehyde* susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda ($\mu\text{g/mL}$)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	0,0101	0,0167	0,0142	0,0410	0,0137
2	10 menit	0,1574	0,2231	0,2017	0,5822	0,1941
3	20 menit	0,1504	0,2472	0,2725	0,6701	0,2234
4	30 menit	0,1749	0,3735	0,2942	0,8426	0,2809

Lampiran 19. Hasil analisis statistik produksi *malodialdehyde* susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda ($\mu\text{g/mL}$)

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	,013667	,0033322	,0019238	,005389	,021944	,0101	,0167
10	3	,194067	,0335086	,0193462	,110827	,277307	,1574	,2231
20	3	,223367	,0644447	,0372072	,063277	,383456	,1504	,2725
30	3	,280867	,0999691	,0577172	,032530	,529204	,1749	,3735
Total	12	,177992	,1168805	,0337405	,103729	,252254	,0101	,3735

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,141	3	8	,087

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,120	3	,040	10,445	,004
Within Groups	,031	8	,004		
Total	,150	11			

Post Hoc Tests

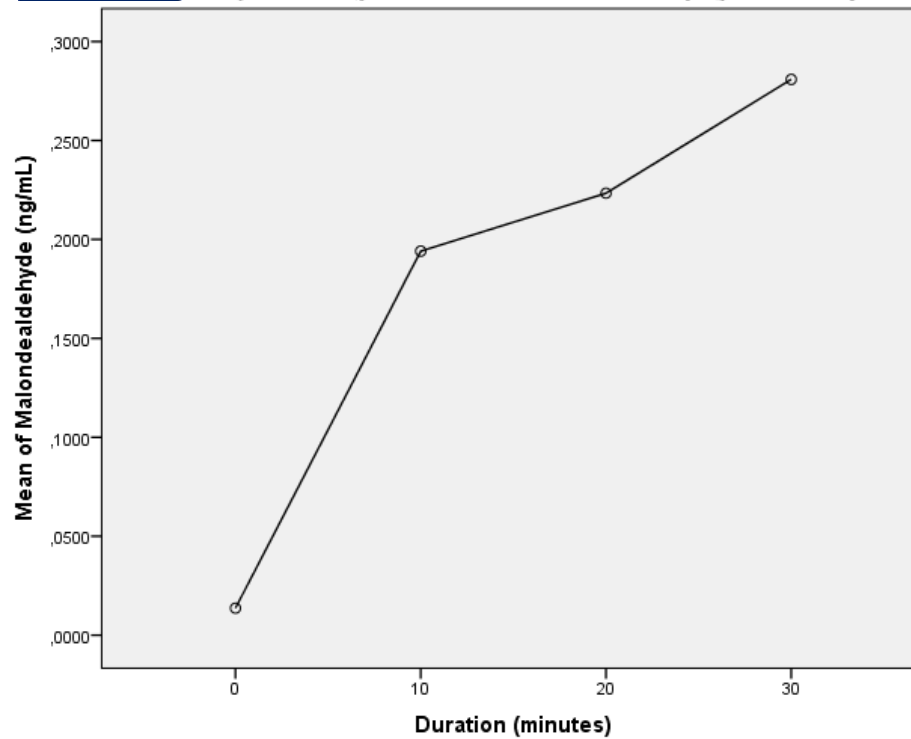
Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	-,1804000 [*]	,0504660	,043	-,355965	-,004835
		20	-,2097000 [*]	,0504660	,019	-,385265	-,034135
		30	-,2672000 [*]	,0504660	,004	-,442765	-,091635
	10	0	,1804000 [*]	,0504660	,043	,004835	,355965
		20	-,0293000	,0504660	1,000	-,204865	,146265
		30	-,0868000	,0504660	,743	-,262365	,088765
	20	0	,2097000 [*]	,0504660	,019	,034135	,385265
		10	,0293000	,0504660	1,000	-,146265	,204865
		30	-,0575000	,0504660	1,000	-,233065	,118065
	30	0	,2672000 [*]	,0504660	,004	,091635	,442765
		10	,0868000	,0504660	,743	-,088765	,262365
		20	,0575000	,0504660	1,000	-,118065	,233065
Games-Howell	0	10	-,1804000 [*]	,0194416	,027	-,312198	-,048602
		20	-,2097000	,0372569	,073	-,466288	,046888
		30	-,2672000	,0577492	,106	-,666307	,131907
	10	0	,1804000 [*]	,0194416	,027	,048602	,312198
		20	-,0293000	,0419362	,892	-,231307	,172707
		30	-,0868000	,0608732	,577	-,431969	,258369
	20	0	,2097000	,0372569	,073	-,046888	,466288

		10	,0293000	,0419362	,892	-,172707	,231307
		30	-,0575000	,0686706	,836	-,362158	,247158
	30	0	,2672000	,0577492	,106	-,131907	,666307
		10	,0868000	,0608732	,577	-,258369	,431969
		20	,0575000	,0686706	,836	-,247158	,362158
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.							

Homogeneous Subsets

Duncan ^a	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
	0	3	,013667	
	10	3		,194067
	20	3		,223367
	30	3		,280867
	Sig.		1,000	,138
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.				

Means Plots





Lampiran 20. Rata-rata berat jenis susu segar yang mengandung antibiotik dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (g/mL)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	1,0259	1,0261	1,0282	3,0802	1,0267
2	10 menit	1,0260	1,0260	1,0277	3,0797	1,0266
3	20 menit	1,0257	1,0258	1,0284	3,0798	1,0266
4	30 menit	1,0258	1,0258	1,0276	3,0792	1,0264

Lampiran 21. Hasil analisis statistik berat jenis susu segar yang mengandung antibiotik dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (g/mL)

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	1,026733	,0012741	,0007356	1,023568	1,029898	1,0259	1,0282
10	3	1,026567	,0009815	,0005667	1,024128	1,029005	1,0260	1,0277
20	3	1,026633	,0015308	,0008838	1,022831	1,030436	1,0257	1,0284
30	3	1,026400	,0010392	,0006000	1,023818	1,028982	1,0258	1,0276
Total	12	1,026583	,0010530	,0003040	1,025914	1,027252	1,0257	1,0284

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,654	3	8	,603

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,000	3	,000	,039	,989
Within Groups	,000	8	,000		
Total	,000	11			

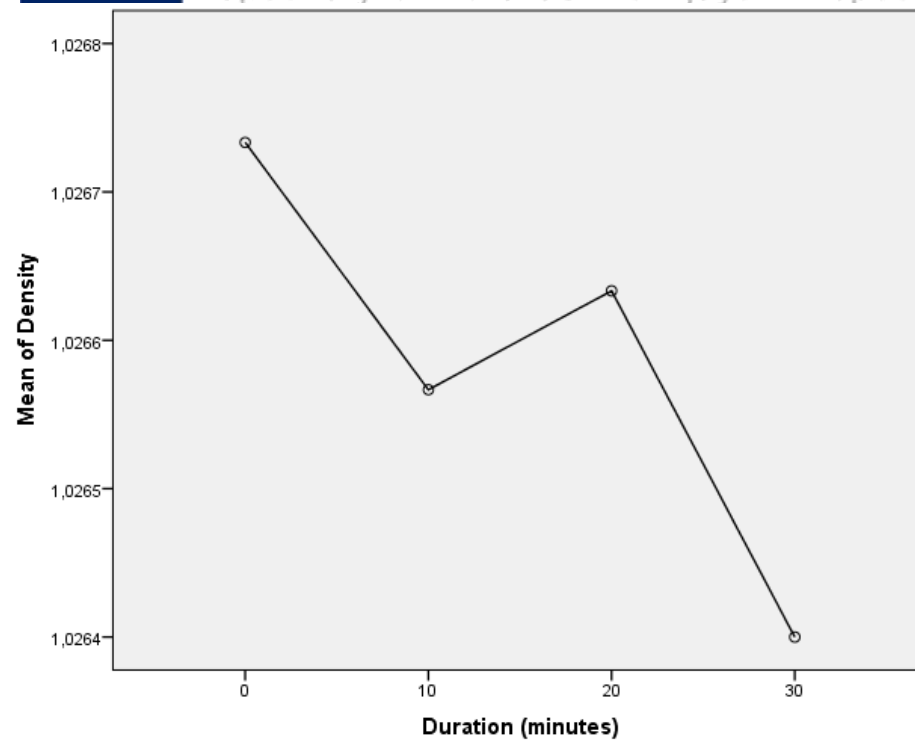
Post Hoc Tests

Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	,0001667	,0010008	1,000	-,003315	,003648
		20	,0001000	,0010008	1,000	-,003382	,003582
		30	,0003333	,0010008	1,000	-,003148	,003815
	10	0	-,0001667	,0010008	1,000	-,003648	,003315
		20	-,0000667	,0010008	1,000	-,003548	,003415
		30	,0001667	,0010008	1,000	-,003315	,003648
	20	0	-,0001000	,0010008	1,000	-,003582	,003382
		10	,0000667	,0010008	1,000	-,003415	,003548
		30	,0002333	,0010008	1,000	-,003248	,003715
	30	0	-,0003333	,0010008	1,000	-,003815	,003148
		10	-,0001667	,0010008	1,000	-,003648	,003315
		20	-,0002333	,0010008	1,000	-,003715	,003248
Games-Howell	0	10	,0001667	,0009286	,998	-,003739	,004072
		20	,0001000	,0011499	1,000	-,004659	,004859
		30	,0003333	,0009493	,983	-,003610	,004277
	10	0	-,0001667	,0009286	,998	-,004072	,003739
		20	-,0000667	,0010499	1,000	-,004733	,004600
		30	,0001667	,0008253	,997	-,003198	,003532

	20	0	-,0001000	,0011499	1,000	-,004859	,004659
		10	,0000667	,0010499	1,000	-,004600	,004733
		30	,0002333	,0010682	,996	-,004424	,004891
	30	0	-,0003333	,0009493	,983	-,004277	,003610
		10	-,0001667	,0008253	,997	-,003532	,003198
		20	-,0002333	,0010682	,996	-,004891	,004424

Homogeneous Subsets

Equal Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	30	3	1,026400
	10	3	1,026567
	20	3	1,026633
	0	3	1,026733
	Sig.		,761
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.			





Lampiran 22. Rata-rata kadar protein susu segar yang mengandung antibiotik dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	3,06	3,09	3,25	9,40	3,1333
2	10 menit	3,07	3,07	3,32	9,46	3,1533
3	20 menit	3,03	3,05	3,31	9,39	3,1300
4	30 menit	3,04	3,05	3,38	9,47	3,1567

Lampiran 23. Hasil analisis statistik kadar protein susu segar yang mengandung antibiotik dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	3,1333	,10214	,05897	2,8796	3,3871	3,06	3,25
10	3	3,1533	,14434	,08333	2,7948	3,5119	3,07	3,32
20	3	3,1300	,15620	,09018	2,7420	3,5180	3,03	3,31
30	3	3,1567	,19348	,11170	2,6760	3,6373	3,04	3,38
Total	12	3,1433	,13069	,03773	3,0603	3,2264	3,03	3,38

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,966	3	8	,455

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,002	3	,001	,024	,995
Within Groups	,186	8	,023		
Total	,188	11			

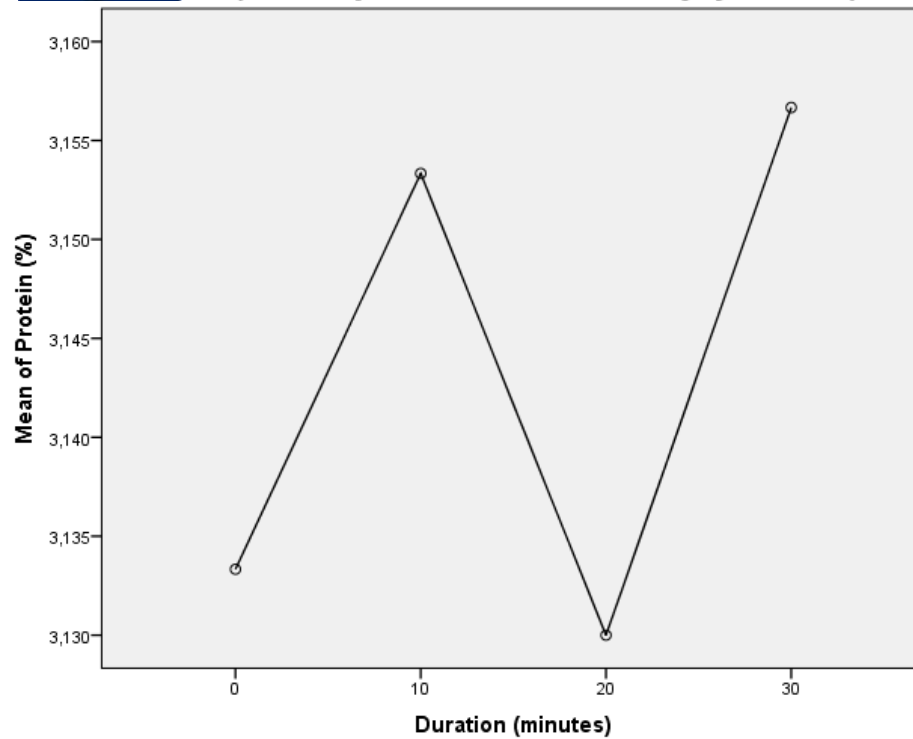
Post Hoc Tests

Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			(I-J)			Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	-,02000	,12457	1,000	-,4533	,4133
		20	,00333	,12457	1,000	-,4300	,4367
		30	-,02333	,12457	1,000	-,4567	,4100
	10	0	,02000	,12457	1,000	-,4133	,4533
		20	,02333	,12457	1,000	-,4100	,4567
		30	-,00333	,12457	1,000	-,4367	,4300
	20	0	-,00333	,12457	1,000	-,4367	,4300
		10	-,02333	,12457	1,000	-,4567	,4100
		30	-,02667	,12457	1,000	-,4600	,4067
	30	0	,02333	,12457	1,000	-,4100	,4567
		10	,00333	,12457	1,000	-,4300	,4367
		20	,02667	,12457	1,000	-,4067	,4600
Games-Howell	0	10	-,02000	,10209	,997	-,4594	,4194
		20	,00333	,10775	1,000	-,4724	,4790
		30	-,02333	,12632	,997	-,6281	,5814
	10	0	,02000	,10209	,997	-,4194	,4594
		20	,02333	,12279	,997	-,4781	,5248
		30	-,00333	,13936	1,000	-,5942	,5876
	20	0	-,00333	,10775	1,000	-,4790	,4724

		10	-,02333	,12279	,997	-,5248	,4781
		30	-,02667	,14357	,997	-,6242	,5709
	30	0	,02333	,12632	,997	-,5814	,6281
		10	,00333	,13936	1,000	-,5876	,5942
		20	,02667	,14357	,997	-,5709	,6242

Homogeneous Subsets

Equal Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	20	3	3,1300
	0	3	3,1333
	10	3	3,1533
	30	3	3,1567
	Sig.		,845
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.			





Lampiran 24. Rata-rata kadar lemak susu segar yang mengandung antibiotik dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	3,93	4,00	3,41	11,34	3,7800
2	10 menit	3,99	3,99	4,89	12,87	4,2900
3	20 menit	3,93	3,94	3,97	11,84	3,9467
4	30 menit	3,78	3,89	5,80	13,47	4,4900

Lampiran 25. Hasil analisis statistik kadar lemak susu segar yang mengandung antibiotik dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (%)

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	3,7800	,32234	,18610	2,9793	4,5807	3,41	4,00
10	3	4,2900	,51962	,30000	2,9992	5,5808	3,99	4,89
20	3	3,9467	,02082	,01202	3,8950	3,9984	3,93	3,97
30	3	4,4900	1,13583	,65577	1,6685	7,3115	3,78	5,80
Total	12	4,1267	,62251	,17970	3,7311	4,5222	3,41	5,80

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8,357	3	8	,008

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,934	3	,311	,748	,553
Within Groups	3,329	8	,416		
Total	4,263	11			

Post Hoc Tests

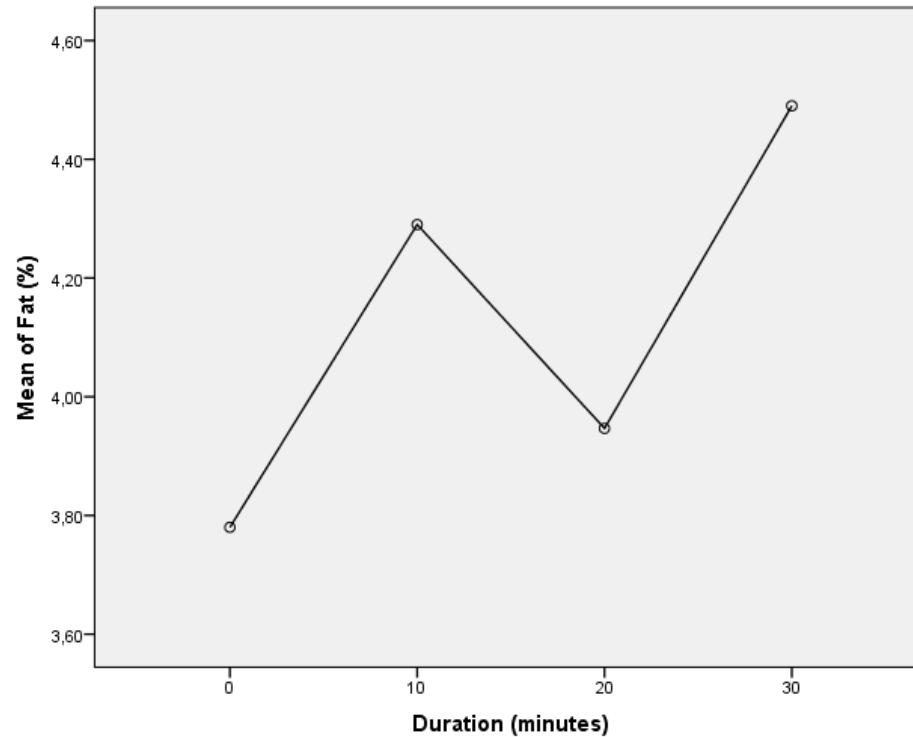
Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	-,51000	,52669	1,000	-2,3423	1,3223
		20	-,16667	,52669	1,000	-1,9990	1,6656
		30	-,71000	,52669	1,000	-2,5423	1,1223
	10	0	,51000	,52669	1,000	-1,3223	2,3423
		20	,34333	,52669	1,000	-1,4890	2,1756
		30	-,20000	,52669	1,000	-2,0323	1,6323
	20	0	,16667	,52669	1,000	-1,6656	1,9990
		10	-,34333	,52669	1,000	-2,1756	1,4890
		30	-,54333	,52669	1,000	-2,3756	1,2890
	30	0	,71000	,52669	1,000	-1,1223	2,5423
		10	,20000	,52669	1,000	-1,6323	2,0323
		20	,54333	,52669	1,000	-1,2890	2,3756
Games-Howell	0	10	-,51000	,35303	,549	-2,0979	1,0779
		20	-,16667	,18649	,814	-1,4468	1,1134
		30	-,71000	,68166	,747	-4,7631	3,3431
	10	0	,51000	,35303	,549	-1,0779	2,0979
		20	,34333	,30024	,706	-1,7293	2,4160
		30	-,20000	,72113	,991	-3,8563	3,4563
	20	0	,16667	,18649	,814	-1,1134	1,4468

	30	10	-,34333	,30024	,706	-2,4160	1,7293
		30	-,54333	,65588	,841	-5,0840	3,9973
		0	,71000	,68166	,747	-3,3431	4,7631
		10	,20000	,72113	,991	-3,4563	3,8563
		20	,54333	,65588	,841	-3,9973	5,0840

Homogeneous Subsets

Equal Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan ^a	0	3	3,7800
	20	3	3,9467
	10	3	4,2900
	30	3	4,4900
	Sig.		,240
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.			

Means Plots





Lampiran 26. Rata-rata konsentrasi residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (mg/kg)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	4,5300	4,7800	4,6900	14,0000	4,6667
2	10 menit	3,9300	3,9900	4,0900	12,0100	4,0033
3	20 menit	3,7000	3,5800	3,7400	11,0200	3,6733
4	30 menit	3,4200	3,3900	3,4800	10,2900	3,4300

Lampiran 27. Hasil analisis statistik konsentrasi residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar dengan perlakuan ozonisasi menggunakan waktu yang berbeda (mg/kg).

Oneway

Descriptives								
Duration (minutes)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	4,6667	,12662	,07311	4,3521	4,9812	4,53	4,78
10	3	4,0033	,08083	,04667	3,8025	4,2041	3,93	4,09
20	3	3,6733	,08327	,04807	3,4665	3,8802	3,58	3,74
30	3	3,4300	,04583	,02646	3,3162	3,5438	3,39	3,48
Total	12	3,9433	,49109	,14177	3,6313	4,2554	3,39	4,78

Test of Homogeneity of Variances			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,010	3	8	,437

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,590	3	,863	109,269	,000
Within Groups	,063	8	,008		
Total	2,653	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons							
Equal Variance	(I) Duration (minutes)	(J) Duration (minutes)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	0	10	,66333 [*]	,07257	,000	,4109	,9158
		20	,99333 [*]	,07257	,000	,7409	1,2458
		30	1,23667 [*]	,07257	,000	,9842	1,4891
	10	0	-,66333 [*]	,07257	,000	-,9158	-,4109
		20	,33000 [*]	,07257	,011	,0775	,5825
		30	,57333 [*]	,07257	,000	,3209	,8258
	20	0	-,99333 [*]	,07257	,000	-1,2458	-,7409
		10	-,33000 [*]	,07257	,011	-,5825	-,0775
		30	,24333	,07257	,060	-,0091	,4958
	30	0	-1,23667 [*]	,07257	,000	-1,4891	-,9842
		10	-,57333 [*]	,07257	,000	-,8258	-,3209
		20	-,24333	,07257	,060	-,4958	,0091
Games-Howell	0	10	,66333 [*]	,08673	,009	,2772	1,0494
		20	,99333 [*]	,08750	,002	,6078	1,3789
		30	1,23667 [*]	,07775	,004	,8067	1,6666
	10	0	-,66333 [*]	,08673	,009	-1,0494	-,2772
		20	,33000 [*]	,06700	,027	,0571	,6029
		30	,57333 [*]	,05364	,004	,3237	,8230

	20	0	-,99333*	,08750	,002	-1,3789	-,6078
		10	-,33000*	,06700	,027	-,6029	-,0571
		30	,24333	,05487	,059	-,0151	,5017
	30	0	-1,23667*	,07775	,004	-1,6666	-,8067
		10	-,57333*	,05364	,004	-,8230	-,3237
		20	-,24333	,05487	,059	-,5017	,0151

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

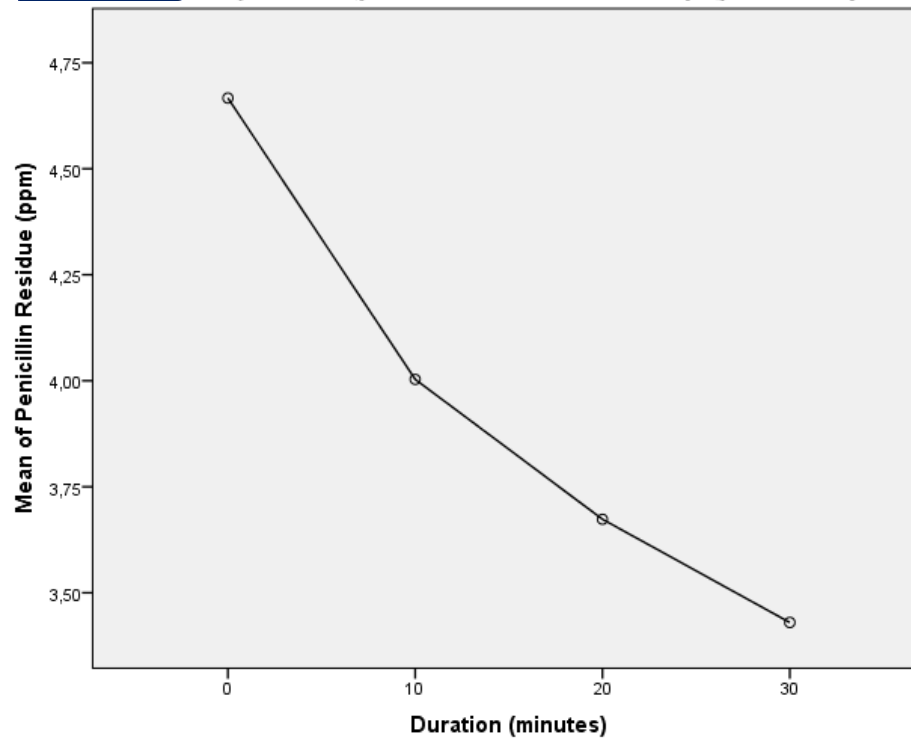
Homogeneous Subsets

Error Variance	Duration (minutes)	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Duncan ^a	30	3	3,4300			
	20	3		3,6733		
	10	3			4,0033	
	0	3				4,6667
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Means Plots





Lampiran 28. Rata-rata konsentrasi residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar selama *withdrawal time* (mg/kg)

No.	Durasi Waktu Ozonisasi	Rata – Rata Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1	0 menit	4,53	3,94	1,23	9,70	3,23
2	30 menit	3,42	2,60	0,05	6,07	2,02

Lampiran 29. Hasil analisis statistik konsentrasi residu antibiotik golongan penisilin pada susu segar selama *withdrawal time* (mg/kg)

T-Test

Paired Samples Statistics					
		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Before	3,2333	3	1,75984	1,01604
	After	2,0233	3	1,75745	1,01466

Paired Samples Correlations				
		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Before dan After	3	,998	,043

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Std. Deviation			
Pair 1	Before - After	1,21000	,11790	,06807	,91712	1,50288	17,776	2	,003

